



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118105481 A

(43) 申请公布日 2024. 05. 31

(21) 申请号 202410101332.2

(22) 申请日 2014.11.12

(30) 优先权数据

14306222.2 2014.07.31 EP

61/902,857 2013.11.12 US

61/955,337 2014.03.19 US

(62) 分案原申请数据

201480072932.5 2014.11.12

(71) 申请人 赛诺菲生物技术公司

地址 法国让蒂伊

申请人 再生元制药公司

(72) 发明人 M·巴卡拉-迪内 L·贝萨克

C·哈诺廷 R·C·波迪

W·J·萨希拉 J·雷伊

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

专利代理师 陈桢

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/40 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

权利要求书2页 说明书47页

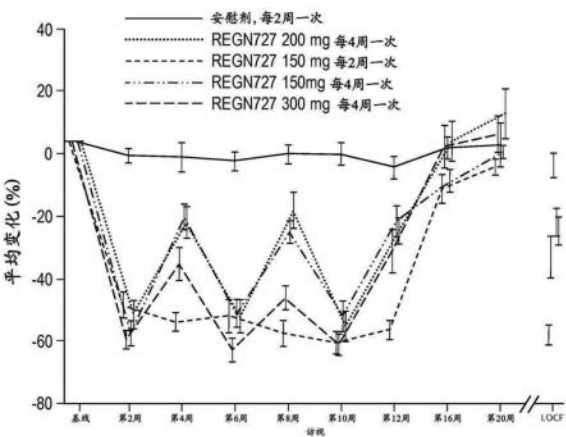
序列表(电子公布) 附图12页

(54) 发明名称

用于与PCSK9抑制剂一起使用的给药方案

(57) 摘要

本发明涉及用于与PCSK9抑制剂一起使用的给药方案,具体提供用于治疗PCSK9介导的疾病或PCSK9介导的状况的方法。具体来说,本发明涉及包括在不存在他汀的情况下向有需要的受试者施用蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的方法。



1. 抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或其抗原结合片段在制备药物中的用途,所述药物用于治疗没有在采用伴随的他汀治疗的患有原发性高胆固醇血症的受试者,

其中所述药物适合于在没有伴随的他汀治疗的情况下向所述受试者以每4周150mg的剂量施用,持续至少3个剂量,并且其中所述药物降低所述受试者的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),并且其中所述在整个给药间间隔期间维持所述降低的LDL-C;

其中所述抗体或其抗原结合片段包含:含有HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链,以及含有LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链,并且其中所述HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:2、3、4、7、8和10。

2. 抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或其抗原结合片段在制备药物中的用途,所述药物用于治疗没有在采用伴随的他汀治疗的患有原发性高胆固醇血症的受试者,

其中所述药物适合于在没有伴随的他汀治疗的情况下向所述受试者以每4周150mg的剂量施用,持续至少3个剂量,并且其中所述药物降低所述受试者的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),并且其中所述在整个给药间间隔期间维持所述降低的LDL-C;

其中所述抗体或其抗原结合片段包含:含有HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链,以及含有LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链,并且其中所述HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列分别示于SEQ ID NO:12、13、14、16、17和18。

3. 抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或其抗原结合片段在制备药物中的用途,所述药物用于治疗没有在采用伴随的他汀治疗的患有原发性高胆固醇血症的受试者,

其中所述药物适合于在没有伴随的他汀治疗的情况下向所述受试者以每4周150mg的剂量施用,持续至少3个剂量,并且其中所述药物降低所述受试者的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),并且其中所述在整个给药间间隔期间维持所述降低的LDL-C;

其中所述抗体或其抗原结合片段包含含有HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链和含有LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链,其中所述重链包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR),其中所述轻链包含含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)。

4. 抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或其抗原结合片段在制备药物中的用途,所述药物用于治疗没有在采用伴随的他汀治疗的患有原发性高胆固醇血症的受试者,

其中所述药物适合于在没有伴随的他汀治疗的情况下向所述受试者以每4周150mg的剂量施用,持续至少3个剂量,并且其中所述药物降低所述受试者的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),并且其中所述在整个给药间间隔期间维持所述降低的LDL-C;

其中所述抗体或其抗原结合片段包含含有HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链和含有LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链,其中所述重链包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR),其中所述轻链包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)。

5. 抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或其抗原结合片段在制备药物中的用途,所述药物用于治疗没有在采用伴随的他汀治疗的患有原发性高胆固醇血症的受试者,

其中所述药物适合于在没有伴随的他汀治疗的情况下向所述受试者以每4周150mg的剂量施用,持续至少3个剂量,并且其中所述药物降低所述受试者的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),并且其中所述在整个给药间隔期间维持所述降低的LDL-C;

其中所述抗体或其抗原结合片段包含含有HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链和含有LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链,其中所述重链包含含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的重链可变区(HCVR),其中所述轻链包含含有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)。

6. 抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或其抗原结合片段在制备药物中的用途,所述药物用于治疗没有采用伴随的他汀治疗的患有原发性高胆固醇血症的受试者,

其中所述药物适合于在没有伴随的他汀治疗的情况下向所述受试者以每4周150mg的剂量施用,持续至少3个剂量,并且其中所述药物降低所述受试者的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),并且其中所述在整个给药间隔期间维持所述降低的LDL-C;

其中所述抗体或其抗原结合片段包含含有HCDR1、HCDR2和HCDR3的重链和含有LCDR1、LCDR2和LCDR3的轻链,其中所述重链包含含有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的重链可变区(HCVR),其中所述轻链包含含有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的轻链可变区(LCVR)。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的用途,其中所述受试者患有不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式(nonFH)。

8. 根据权利要求1-6中任一项所述的用途,其中所述受试者患有杂合子家族性高胆固醇血症(heFH)。

9. 根据权利要求1-6中任一项所述的用途,其中所述患有原发性高胆固醇血症的受试者是他汀不耐受或用他汀未受控制的。

10. 根据权利要求1-5中任一项所述的用途,其中所述受试者患有糖尿病,优选为II型糖尿病。

用于与PCSK9抑制剂一起使用的给药方案

[0001] 本发明申请是基于申请日为2014年11月12日,申请号为201480072932.5(国际申请号为PCT/US2014/065149)、名称为“用于与PCSK9抑制剂一起使用的给药方案”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请涉及2013年11月12日提交的美国临时专利申请61/902857号,2014年3月19日提交的美国临时专利申请61/955337号,和2014年7月31日提交的欧洲专利申请14306222.2号,再次通过提述将它们每一篇的内容以其整体并入。

发明领域

[0004] 本发明涉及用于PCSK9介导的疾病或PCSK9介导的状况的治疗性处理领域。具体来说,本发明涉及包括在不存在他汀的情况下向有需要的受试者施用蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(PCSK9)拮抗剂例如抗-PCSK9抗体或抗原结合蛋白的方法。本发明还涉及包括向没有在采用伴随的他汀的受试者施用PCSK9抗体或抗原结合蛋白的高剂量、低频率给药方案的方法。

[0005] 序列表

[0006] 本申请包括序列表并且通过提述将其整体并入本文。

背景技术

[0007] 高胆固醇血症,尤其是低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平的增加,构成了动脉粥样硬化和冠心病(CHD)形成的主要风险,动脉粥样硬化和冠心病是西方世界中死亡和残疾的主要原因。数个研究以LDL-C水平和CHD事件之间强烈的直接关系证明了降低LDL-C水平(主要用3-羟基-3-甲基-戊二酰-CoA还原酶(HMG CoA)抑制剂(通常称作他汀类))使CHD风险降低;对于LDL-C方面每1mmol/L(约40mg/dL)的降低,心血管疾病(CVD)死亡率和发病率降低22%。更大的LDL-C降低在事件方面产生更大的降低,并且强化的他汀治疗相对于标准的他汀治疗的比较数据提示LDL-C水平越低,处于高心血管风险中的患者的获益越大。

[0008] 导致冠状动脉粥样硬化进行性积累的LDL-C的长期升高需要长期的管理,这包括生活方式措施作为主要干预。然而,由于生活方式措施很少将血浆LDL-C降低>15%,需要使用药理学治疗来充分治疗血脂异常患者。当前降低LDL-C的药物包括他汀类(statins)、依泽替米贝(EZE)、贝特类(fibrates)、烟酸和胆汁酸螯合剂(sequestrants),其中他汀类是最常开具的处方,因为它们显示了杰出的降低LDL-C和降低CHD事件的能力。因为高胆固醇血症在很多情况下没有症状,用于管控它的药理作用剂的副作用就能动摇患者的顺应性。在数种群组研究(cohort study)中,在1年时所报道的遵守他汀治疗的比例范围从26%至85%,其中在最初几个月内通常观察到遵守比例的快速下降。

[0009] 尽管调脂疗法如他汀类的广泛可用性,在1999年至2006间在美国针对高胆固醇血症进行治疗的全部成年患者中约30%没有实现他们推荐的LDL-C目标。个中的原因包括对疗法的遵守性不佳、药物抗性/耐受性以及不良事件率和增加的剂量之间的正相关性。另

外,由于大多数有效的调脂疗法仅能将LDL-C水平降低最多55%,在需要LDL-C实质性降低的患者如患有家族性高胆固醇血症的那些中目标实现率通常显著低于可能的预期。因此需要更有效的调脂疗法和治疗方案来改善这些患者中的目标实现率。

[0010] 蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型 (PCSK9) 是属于分泌性枯草杆菌蛋白酶家族的蛋白酶K亚家族的蛋白原转化酶。有证据提示PCSK9通过促进LDL受体的降解增加血浆LDL胆固醇,所述LDL受体介导肝内的LDL内吞作用,是从循环清除LDL的主要途径。

[0011] 使用PCSK9抑制剂(抗-PCSK9抗体)降低血清总胆固醇、LDL胆固醇和血清甘油三酯已记载于美国专利8,062,640和8,357,371号,以及美国专利申请公开2013/0064834号中。然而,本领域仍然需要改进的治疗方法。

发明内容

[0012] 本发明通过确立了在不存在他汀的情况下以较低频率向受试者施用PCSK9抗体或抗原结合蛋白的有益效果解决了本领域对改进的治疗方法的需求。本发明提供通过在不存在他汀的情况下施用抗-PCSK9抗体的高剂量、低频率给药方案治疗高胆固醇血症和/或降低LDL-胆固醇的方法。

[0013] 一个实施方案提供在有需要的受试者中降低低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 的方法,其通过向没有采用伴随的他汀 (concomitant statin) 的所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型 (抗-PCSK9) 抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量,由此降低所述受试者中的LDL-C。

[0014] 另一个实施方案提供在有需要的受试者中治疗高胆固醇血症的方法,其通过向没有采用伴随的他汀的所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型 (抗-PCSK9) 抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量,由此治疗所述受试者中的高胆固醇血症。

[0015] 一个实施方案提供在受试者中在整个给药间隔期间保持恒定的低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 降低的方法,通过向没有采用伴随的他汀的所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin9型 (抗-PCSK9) 抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量。本发明还提供在受试者中增加蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型 (PCSK9) 拮抗剂的作用持续时间的方法,通过在不存在他汀的情况下向所述受试者施用PCSK9拮抗剂。

[0016] 在一些实施方案中,所述受试者患有杂合子家族性高胆固醇血症 (heFH)。在其他实施方案中,所述受试者患有不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式 (nonFH)。

[0017] 本发明还包括在有需要的受试者中治疗不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式的方法,通过向所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型 (抗-PCSK9) 抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量,由此治疗所述受试者中不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式。

[0018] 在一些实施方案中,受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中正在使用非他汀类降脂剂。在一些实施方案中,所述非他汀类降脂剂选自下组:依泽替米贝、贝特类、非诺贝特、烟酸、 ω -3脂肪酸和胆汁酸树脂。在具体的实施方案中,所述非他汀类降脂剂是依泽替米贝或非诺贝特。在其他实施方案中,所述受试者在所述抗体或抗原结

合蛋白的施用之前和/或过程中没有在使用非他汀类降脂剂。

[0019] 在一些实施方案中,所述PCSK9抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NOs:1/6和11/15的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的重链和轻链互补决定区(CDR)。在一些方面,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18的重链和轻链CDR氨基酸序列。在一些方面,述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCVR。在一些方面,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列。在一些方面,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCVR。

[0020] 在本发明的某些方面,所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体结合PCSK9上相同的表位。

[0021] 在本发明的某些方面,所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体竞争结合PCSK9。

[0022] 本发明的方法包括向受试者以每四周约150mg的剂量施用抗-PCSK9抗体或抗原结合蛋白,持续至少三个剂量。在某些实施方案中,以每4周约150mg的剂量施用所述抗体,持续三个剂量,并且如果受试者的LDL-C值低于目标LDL-C水平,那么将剂量保持在每四周约150mg。在一些实施方案中,在受试者接受了所述抗体或抗原结合蛋白的第一个剂量之后,测量受试者的LDL-C十二周。在一些实施方案中,所述目标LDL-C水平是低于70毫克每分升(mg/dL)。在别的实施方案中,所述目标LDL-C水平是低于70毫克每分升(mg/dL)和LDL-C的30%降低。在其他实施方案中,所述目标LDL-C水平是低于100毫克每分升(mg/dL)。在别的实施方案中,所述目标LDL-C水平是低于100毫克每分升(mg/dL)和LDL-C的30%降低。

[0023] 本发明的方法包括通过注射施用抗-PCSK9抗体或抗原结合蛋白,包括皮下注射。

[0024] 在一些实施方案中,所述方法降低受试者中载脂蛋白B(ApoB)、非高密度脂蛋白胆固醇(non-HDL-C)、总胆固醇(TC)、脂蛋白a(Lp(a))、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、甘油三酯(TG)或载脂蛋白A-1(Apo A-1)中一种或多种的水平。

[0025] 在某些实施方案中,所述受试者展现出高胆固醇血症的一种或多种症状或征兆(indicia)或已经诊断患有高胆固醇血症,或将受益于总血清胆固醇、LDL、甘油三酯、VLDL、脂蛋白(a)的降低,或将受益于HDL的升高。

[0026] 在某些实施方案中,所述PCSK9介导的疾病或PCSK9介导的状况选自下组:升高的总胆固醇水平、升高的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平、高血脂症、血脂异常、动脉粥样硬化、心血管病、高胆固醇血症、原发性高胆固醇血症、家族性高胆固醇血症和高胆固醇血症,其通过他汀类没有得到控制。在某些实施方案中,所述受试者落入下列受试者组中的一组或多组:(i)具有至少100mg/dL的血清LDL胆固醇(LDL-C)水平的受试者,(ii)具有低于40mg/dL的血清HDL-C水平的受试者;(iii)具有至少200mg/dL的血清胆固醇水平的受试者;和(iv)具有至少150mg/dL的血清三酰基甘油水平的受试者,其中所述三酰基甘油水平在禁食至少8小时之后测定。

[0027] 本发明还提供包含用于治疗具有PCSK9介导的疾病或PCSK9介导的状况的受试者

的PCSK9抑制剂和药学可接受赋形剂的药物组合物。在某些实施方案中,所述PCSK9抑制剂是抗体,其包括包含含有SEQ ID NOs:2、3和4中所示CDR氨基酸序列的重链可变域和含有SEQ ID NOs:7、8和10中所示CDR氨基酸序列的轻链可变域的抗体。在某些实施方案中,所述抗体包含SEQ ID NOs:12、13和14中所示CDR氨基酸序列的重链可变域和SEQ ID NOs:16、17和18中所示CDR氨基酸序列的轻链可变域。在某些实施方案中,所述抗体包含分别示于SEQ ID NOs:1和6或SEQ ID NOs:11和15的氨基酸序列的重链可变域和轻链可变域。在某些实施方案中,药物组合物包含药学可接受的赋形剂,其为组氨酸pH 6.0、聚山梨酯20和蔗糖的组合。

[0028] 一个实施方案提供抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的给药方案,其在人受试者中在整个给药间隔期间保持恒定的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)降低,所述人受试者在以每4周约150mg的剂量施用抗-PCSK9抗体或其抗原结合蛋白持续至少3个剂量之后,具有选自下组的一种或多种特性:(a)约250mg·天/L至约650mg·天/L的从时间零点至实时使用梯形法计算的血浆浓度对时间曲线下面积(AUC_{last});(b)约15mg/L至约33mg/L的最大血浆浓度观察值(C_{max});(c)约7天的第一次达到最大血浆浓度的时间(t_{max});和(d)约5.5天至约12天的达到终末半衰期的时间($t_{1/2}$)。

[0029] 另一个实施方案提供抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的给药方案,其在人受试者中在整个给药间隔期间保持恒定的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)降低,所述人受试者在以每4周约150mg的剂量施用抗-PCSK9抗体或其抗原结合蛋白持续至少3个剂量之后,具有选自下组的一种或多种特性:(a)约150mg·天/L至约450mg·天/L的从时间零点至实时使用梯形法计算的血浆浓度对时间曲线下面积(AUC_{last});(b)约10.5mg/L至约24mg/L的最大血浆浓度观察值(C_{max});(c)约7天的第一次达到最大血浆浓度的时间(t_{max});和(d)约5天至约9天的达到终末半衰期的时间($t_{1/2}$)。

[0030] 综上所述,本发明包括但不限于以下项:

[0031] 1.一种用于在有需要的受试者中降低低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的方法,包括向没有在采用伴随的他汀的所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量,由此降低所述受试者中的LDL-C。

[0032] 2.项1的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NOs:1/6和11/15的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的重链和轻链互补决定区(CDR)。

[0033] 3.项2的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18的重链和轻链CDR氨基酸序列。

[0034] 4.项3的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCVR。

[0035] 5.项2的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列。

[0036] 6.项5的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCVR。

[0037] 7.项1的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体结合

PCSK9上相同的表位。

[0038] 8. 项1的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体竞争结合PCSK9。

[0039] 9. 项1-8中任一项的方法,其中所述受试者患有不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式(nonFH)。

[0040] 10. 项1-8中任一项的方法,其中所述受试者患有杂合子家族性高胆固醇血症(heFH)。

[0041] 11. 项10的方法,其中heFH的诊断通过基因分型或临床标准做出。

[0042] 12. 项11的方法,其中所述临床标准是用于杂合子家族性高胆固醇血症的Simon Broome注册诊断标准(Simon Broome Register Diagnostic Criteria),或WHO/荷兰脂质网络(Dutch Lipid Network)标准,其中评分>8。

[0043] 13. 项1-12中任一项的方法,其中所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中正在使用非他汀类降脂剂。

[0044] 14. 项13的方法,其中所述非他汀类降脂剂选自下组:依泽替米贝(ezetimibe)、贝特类(a fibrate)、非诺贝特(fenofibrate)、烟酸、 ω -3脂肪酸和胆汁酸树脂。

[0045] 15. 项14的方法,其中所述非他汀类降脂剂是依泽替米贝或非诺贝特。

[0046] 16. 项1-12中任一项的方法,其中所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中没有在使用非他汀类降脂剂。

[0047] 17. 项1-16中任一项的方法,其中所述抗体或抗原结合蛋白是皮下施用的。

[0048] 18. 项1-16中任一项的方法,其中如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \leq 70mg/dL,那么保持每4周约150mg的剂量。

[0049] 19. 项1-16中任一项的方法,其中如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \geq 70mg/dL,那么中断每4周约150mg的剂量,并且随后向所述受试者以每2周约150mg的剂量施用所述抗体或抗原结合蛋白。

[0050] 20. 一种用于在有需要的受试者中治疗高胆固醇血症的方法,包括向没有在采用伴随的他汀的所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量,由此治疗所述受试者中的高胆固醇血症。

[0051] 21. 项20的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NOs:1/6和11/15的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的重链和轻链互补决定区(CDR)。

[0052] 22. 项21的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18的重链和轻链CDR氨基酸序列。

[0053] 23. 项22的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCVR。

[0054] 24. 项21的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列。

[0055] 25. 项24的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCVR。

- [0056] 26. 项21的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体结合PCSK9上相同的表位。
- [0057] 27. 项21的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体竞争结合PCSK9。
- [0058] 28. 项20-27中任一项的方法,其中所述受试者患有不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式(nonFH)。
- [0059] 29. 项20-27中任一项的方法,其中所述受试者患有杂合子家族性高胆固醇血症(heFH)。
- [0060] 30. 项29的方法,其中heFH的诊断通过基因分型或临床标准做出。
- [0061] 31. 项30的方法,其中所述临床标准是用于杂合子家族性高胆固醇血症的Simon Broome注册诊断标准(Simon Broome Register Diagnostic Criteria),或WHO/荷兰脂质网络(Dutch Lipid Network)标准,其中评分>8。
- [0062] 32. 项20-31中任一项的方法,其中所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中正在使用非他汀类降脂剂。
- [0063] 33. 项32的方法,其中所述非他汀类降脂剂选自下组:依泽替米贝、贝特类、非诺贝特、烟酸、 ω -3脂肪酸和胆汁酸树脂。
- [0064] 34. 项33的方法,其中所述非他汀类降脂剂是依泽替米贝或非诺贝特。
- [0065] 35. 项20-31中任一项的方法,其中所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中没有在使用非他汀类降脂剂。
- [0066] 36. 项20-35中任一项的方法,其中所述抗体或抗原结合蛋白是皮下施用的。
- [0067] 37. 项20-36中任一项的方法,其中如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \leq 70mg/dL,那么保持每4周约150mg的剂量。
- [0068] 38. 项20-36中任一项的方法,其中如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \geq 70mg/dL,那么中断每4周约150mg的剂量,并且随后向所述受试者以每2周约150mg的剂量施用所述抗体或抗原结合蛋白。
- [0069] 39. 一种用于在有需要的受试者中治疗不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式的方法,包括向所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量,由此治疗所述受试者中不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式。
- [0070] 40. 项39的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NOs:1/6和11/15的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的重链和轻链互补决定区(CDR)。
- [0071] 41. 项40的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18的重链和轻链CDR氨基酸序列。
- [0072] 42. 项41的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCVR。
- [0073] 43. 项40的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列。

[0074] 44. 项43的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCVR。

[0075] 45. 项39的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体结合PCSK9上相同的表位。

[0076] 46. 项39的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体竞争结合PCSK9。

[0077] 47. 项39-46中任一项的方法,其中所述受试者患有不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式(nonFH)。

[0078] 48. 项39-46中任一项的方法,其中所述受试者患有杂合子家族性高胆固醇血症(heFH)。

[0079] 49. 项48的方法,其中heFH的诊断通过基因分型或临床标准做出。

[0080] 50. 项49的方法,其中所述临床标准是用于杂合子家族性高胆固醇血症的Simon Broome注册诊断标准(Simon Broome Register Diagnostic Criteria),或WHO/荷兰脂质网络(Dutch Lipid Network)标准,其中评分>8。

[0081] 51. 项39-50中任一项的方法,其中所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中正在使用非他汀类降脂剂。

[0082] 52. 项51的方法,其中所述非他汀类降脂剂选自下组:依泽替米贝、贝特类、非诺贝特、烟酸、 ω -3脂肪酸和胆汁酸树脂。

[0083] 53. 项52的方法,其中所述非他汀类降脂剂是依泽替米贝或非诺贝特。

[0084] 54. 项39-50中任一项的方法,其中所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中没有在使用非他汀类降脂剂。

[0085] 55. 项39-54中任一项的方法,其中所述抗体或抗原结合蛋白是皮下施用的。

[0086] 56. 项39-55中任一项的方法,其中如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \leq 70mg/dL,那么保持每4周约150mg的剂量。

[0087] 57. 项39-55中任一项的方法,其中如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \geq 70mg/dL,那么中断每4周约150mg的剂量,并且随后向所述受试者以每2周约150mg的剂量施用所述抗体或抗原结合蛋白。

[0088] 58. 一种抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的给药方案,其在人受试者中在整个给药间间隔期间保持恒定的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)降低,所述人受试者在以每4周约150mg的剂量施用抗-PCSK9抗体或其抗原结合蛋白持续至少3个剂量之后,具有选自下组的一种或多种特性:

[0089] (a) 约250mg \cdot 天/L至约650mg \cdot 天/L的从时间零点至实时使用梯形法计算的血浆浓度对时间曲线下面积(AUC_{last});

[0090] (b) 约15mg/L至约33mg/L的最大血浆浓度观察值(C_{max});

[0091] (c) 约7天的第一次达到最大血浆浓度的时间(t_{max});和

[0092] (d) 约5.5天至约12天的达到终末半衰期的时间(t_{1/2}^Z)。

[0093] 59. 一种抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合

蛋白的给药方案,其在人受试者中在整个给药间隔期间保持恒定的低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)降低,所述人受试者在以每4周约150mg的剂量施用抗-PCSK9抗体或其抗原结合蛋白持续至少3个剂量之后,具有选自下组的一种或多种特性:

[0094] (a) 约150mg·天/L至约450mg·天/L的从时间零点至实时使用梯形法计算的血浆浓度对时间曲线下面积(AUC_{last});

[0095] (b) 约10.5mg/L至约24mg/L的最大血浆浓度观察值(C_{max});

[0096] (c) 约7天的第一次达到最大血浆浓度的时间(t_{max});和

[0097] (d) 约5天至约9天的达到终末半衰期的时间(t_{1/2}^Z)。

[0098] 60.一种用于在受试者中在整个给药间隔期间保持恒定的低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)降低的方法,包括向没有在使用伴随的他汀的所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量。

[0099] 61.项60的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NOs:1/6和11/15的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的重链和轻链互补决定区(CDR)。

[0100] 62.项61的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18的重链和轻链CDR氨基酸序列。

[0101] 63.项62的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCVR。

[0102] 64.项61的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列。

[0103] 65.项64的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCVR。

[0104] 66.项60的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体结合PCSK9上相同的表位。

[0105] 67.项60的方法,其中所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体竞争结合PCSK9。

[0106] 68.项60-67中任一项的方法,其中所述受试者患有不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式(nonFH)。

[0107] 69.项60-67中任一项的方法,其中所述受试者患有杂合子家族性高胆固醇血症(heFH)。

[0108] 70.项69的方法,其中heFH的诊断通过基因分型或临床标准做出。

[0109] 71.项70的方法,其中所述临床标准是用于杂合子家族性高胆固醇血症的Simon Broome注册诊断标准(Simon Broome Register Diagnostic Criteria),或WHO/荷兰脂质网络(Dutch Lipid Network)标准,其中评分>8。

[0110] 72.项60-71中任一项的方法,其中所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中正在使用非他汀类降脂剂。

[0111] 73.项72的方法,其中所述非他汀类降脂剂选自下组:依泽替米贝、贝特类、非诺贝

特、烟酸、 ω -3脂肪酸和胆汁酸树脂。

[0112] 74. 项73的方法, 其中所述非他汀类降脂剂是依泽替米贝或非诺贝特。

[0113] 75. 项60-71中任一项的方法, 其中所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中没有在使用非他汀类降脂剂。

[0114] 76. 项60-75中任一项的方法, 其中所述抗体或抗原结合蛋白是皮下施用的。

[0115] 77. 项60的方法, 其中如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \leq 70mg/dL, 那么保持每4周约150mg的剂量。

[0116] 78. 项60的方法, 其中如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \geq 70mg/dL, 那么中断每4周约150mg的剂量, 并且随后向所述受试者以每2周约150mg的剂量施用所述抗体或抗原结合蛋白。

[0117] 附图简述

[0118] 图1是现有技术的图, 其显示对于给予Alirocumab的患有杂合子家族性高胆固醇血症的患者在治疗和随访期基线LDL-C相对于周数的平均百分比变化, 所述患者在使用与或不与依泽替米贝疗法一起的稳定他汀剂量。具体来说, 血浆LDL-C浓度的“锯齿型”概貌明显, 因为所述现有技术治疗无法在整个给药间隔期间保持恒定的LDL-C降低。

[0119] 图2是显示对于如下三组从第-29天至第120天LDL-C距离基线的百分比变化的图: Alirocumab+安慰剂、Alirocumab+依泽替米贝和Alirocumab+非诺贝特。

[0120] 图3是显示对于如下三组从第-1天至第120天LDL-C距离基线的百分比变化的图: Alirocumab+安慰剂、Alirocumab+依泽替米贝和Alirocumab+非诺贝特。

[0121] 图4是显示对于如下的配对比较的平均估值的LDL-C距离基线的百分比变化的点线图: Alirocumab 150mg SC Q4W+依泽替米贝相对于Alirocumab 150mg SC Q4W; 和 Alirocumab 150mg SC Q4W+非诺贝特相对于Alirocumab 150mg SC Q4W。

[0122] 图5A-D是一组四幅图, 显示了游离PCSK9的平均水平, 将三个治疗组一起比较(A), 并按照治疗组与距离第-29天基线的LDL-C的百分比变化比较(B-D) (N=24每组)。图5A显示比较的全部三组的结果。图5B显示Alirocumab+安慰剂组的结果。图5C显示Alirocumab+EZE组的结果。图5D显示Alirocumab+FEN0组的结果。

[0123] 图6A-C图6A-C是一组三幅图, 显示距离第-29天基线的LDL-C的百分比变化(图6A), 以及第57天(第3次Alirocumab注射的时间)至第85天(第3次Alirocumab注射的28天后)的游离PCSK9水平(图6B)和总Alirocumab水平(图6C)。

[0124] 图7(顶部)是两幅图, 以线性(左上)和半对数体系(右上)显示三个组在第一次Alirocumab施用之后第1天的平均Alirocumab血清浓度-时间图谱: Alirocumab+安慰剂、Alirocumab+依泽替米贝和Alirocumab+非诺贝特。图7(底部)是两幅图, 以线性(左下)和半对数体系(右下)显示三个组在第三次Alirocumab施用之后第57天的平均Alirocumab血清浓度-时间图谱: Alirocumab+安慰剂、Alirocumab+依泽替米贝和Alirocumab+非诺贝特。

[0125] 发明详述

[0126] 在描述本发明之前, 应理解本发明不限于所述的具体方法和实验条件, 因为这些方法和条件可能改变。还应理解此处使用的术语仅出于描述具体实施方案的目的, 而非意图进行限制, 因为本发明的范围只会通过所附权利要求进行限定。

[0127] 定义

[0128] 除非另行定义,否则此处使用的全部技术和科学术语与本领域普通技术人员通常所理解的含义相同。

[0129] 在此指出如用于本说明书和所附权利要求书中时,单数形式的“一个”、“一种”和“所述”也包括复数的指代物,除非上下文中明确地另行指明。

[0130] 术语“约”或“大约”在用于指特定的所记载的数值时,意指该数值可以与所记载的值有不超过1%的不同。例如,如用于本文,表述“约100”包括99和101,以及其间的所有值(例如,99.1、99.2、99.3、99.4等)。

[0131] 术语“施用”指注射或以其他方式物理递送存在于体外的物质(例如本发明的制剂)至患者中的行为,如通过粘膜、皮内、静脉内、皮下、肌内递送和/或任何其他本文描述的或本领域已知的物理递送方法。当对疾病或其症状进行治疗时,物质的施用通常发生在疾病或其症状发作之后。当对疾病或其症状进行预防时,物质的施用通常发生在疾病或其症状发作之前。

[0132] 术语“组合物”和“制剂”意图涵盖以任选地指定量含有指定成分(例如,抗-PCSK9抗体)的产品,以及从所述指定成分以任选地指定量的组合所直接或间接产生的任何产品。

[0133] 术语“赋形剂”指通常用作药物的稀释剂、载剂、防腐剂、粘合剂、稳定剂等的情性物质,并且包括但不限于蛋白质(例如,血清白蛋白等)、氨基酸(例如,天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、甘氨酸、组氨酸等)、脂肪酸和磷脂(例如,烷基磺酸盐/酯、锌酸盐/酯等)、表面活性剂(例如,SDS、聚山梨酯、非离子表面活性剂等),糖类(例如,蔗糖、麦芽糖、海藻糖等)和多元醇(例如,甘露糖醇、山梨糖醇等)。同样参见Remington's Pharmaceutical Sciences(1990)Mack Publishing Co.,Easton,Pa.,将其通过提述整体并入本文。

[0134] 在肽和多肽的背景下,术语“片段”指包含不到全长氨基酸序列的肽或多肽。这样的片段可以例如产生自从氨基酸序列氨基末端的截短、羧基末端的截短和/或残基的内部缺失。片段可以例如产生自另一种RNA剪接或产生自体内蛋白酶活性。在某些实施方案中,PCSK9片段包括包含PCSK9多肽的氨基酸序列的至少50、至少100个氨基酸残基、至少125个连续的氨基酸残基、至少150个连续的氨基酸残基、至少175个连续的氨基酸残基、至少200个连续的氨基酸残基或至少250个连续的氨基酸残基的氨基酸序列的多肽。在具体实施方案中,PCSK9多肽或特异性结合PCSK9抗原的抗体的片段保留全长多肽或抗体的至少1种、至少2种或至少3种功能。

[0135] 术语“药学上可接受的”意指联邦或州政府的监管机构批准的或列于美国药典、欧洲药典或其他公认的药典中的用于动物并且更具体用于人的。

[0136] 术语“预防”和“防止”指由施用本文提供的疗法或疗法的组合(例如,预防剂或治疗剂的组合)导致的对PCSK9介导的疾病和/或其相关症状的发展、复发、发作或扩散的完全或部分抑制。

[0137] 术语“PCSK9抗原”指PCSK9多肽中抗体特异性结合的部分。PCSK9抗原还指抗体特异性结合的PCSK9多肽或其片段的类似物或衍生物。在一些实施方案中,PCSK9抗原是单体PCSK9抗原或三聚PCSK9抗原。PCSK9多肽中促成表位的区域可以是多肽中连续的氨基酸,或者所述表位可以从多肽中两个或更多个不连续区域来到一起。所述表位可以是或可以不是抗原的三维表面特征。PCSK9抗原表面上能够引发免疫应答的局部区域是PCSK9表位。所述表位可以是或可以不是抗原的三维表面特征。

[0138] 术语“人PCSK9”、“hPCSK9”或“hPCSK9多肽”以及类似术语指包含SEQ ID NO:198的氨基酸序列的多肽(“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文可互换使用),以及相关多肽,包括其SNP变体。相关多肽包括等位基因变体(例如,SNP变体);剪接变体;片段;衍生物;取代、缺失和插入变体;融合多肽;和种间同源物,优选地,其保留PCSK9活性和/或足以产生抗PCSK9免疫应答。还涵盖足以产生抗PCSK9免疫应答的PCSK9的可溶形式。如本领域技术人员会理解的,抗-PCSK9抗体能够结合PCSK9多肽、多肽片段、抗原和/或表位,因为表位是更大的抗原的一部分,抗原是更大的多肽片段的一部分,多肽片段继而又是更大的多肽的一部分。hPCSK9可以以三聚(天然)或单体(变性)形式存在。

[0139] 术语“PCSK9介导的疾病”、“PCSK9介导的状况”和“PCSK9介导的病症”可互换使用,并且指完全或部分由PCSK9例如hPCSK9引起的或作为PCSK9例如hPCSK9的结果的任何疾病。在某些实施方案中,PCSK9是异常(例如,高)表达的。在一些实施方案中,PCSK9可以是异常上调的。在其他实施方案中,正常、异常或过量细胞信号传导是由PCSK9结合至PCSK9配体引起的。在某些实施方案中,所述PCSK9配体是PCSK9受体。在某些实施方案中,所述PCSK9介导的疾病或状况选自下组:升高的总胆固醇水平;升高的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平;高脂血症;血脂异常;高胆固醇血症,特别是不受他汀类控制的高胆固醇血症,高胆固醇血症,如家族性高胆固醇血症或非家族性高胆固醇血症,和不受他汀类控制的高胆固醇血症;动脉粥样硬化;和心血管疾病。

[0140] 术语“受试者”和“患者”可互换使用。如用于本文,受试者优选是哺乳动物,如非灵长类(例如,牛、猪、马、猫、狗、大鼠等)或灵长类(例如猴和人),最优选是人。在一个实施方案中,所述受试者是具有PCSK9介导的疾病的哺乳动物,优选是人。在另一实施方案中,所述受试者是处于形成PCSK9介导的疾病的风险中的哺乳动物,优选是人。

[0141] 术语“治疗剂”指任何能够用于治疗、管控或改善PCSK9介导的疾病和/或其相关症状的作用剂。在某些实施方案中,术语“治疗剂”指本发明的PCSK9抗体。在某些其他实施方案中,术语“治疗剂”指本发明的PCSK9抗体之外的其他作用剂。优选地,治疗剂是已知可用于或者已经或目前正在用于治疗、管控或改善PCSK9介导的疾病或其相关的一种或多种症状的作用剂。

[0142] 术语“疗法”指可以用于预防、管控、治疗和/或改善PCSK9介导的疾病(例如,动脉粥样硬化或高胆固醇血症)的任何方案、方法和/或治疗剂。在某些实施方案中,术语“疗法”指生物疗法、支持疗法和/或本领域技术人员如医务工作者已知的用于预防、管控、治疗和/或改善PCSK9介导的疾病的其他疗法。

[0143] 术语“治疗”指由施用一种或多种疗法(包括但不限于施用一种或多种预防剂或治疗剂)产生的对PCSK9介导的疾病(例如,动脉粥样硬化)的进展、严重性和/或持续时间的减少或改善。在具体的实施方案中,该术语指减少或抑制PCSK9与PCSK9配体的结合。

[0144] 尽管与本文描述的那些类似或等同的任何方法和材料可用于本发明的实施,但是现在对优选的方法和材料进行描述。本文提到的全部出版物均通过提述以其整体并入本文。

[0145] 患者群体

[0146] 本发明的方法包括选择患有或有风险形成PCSK9介导的疾病或状况如高胆固醇血症或相关病症(例如,动脉粥样硬化)的受试者,并向这些受试者在不存在他汀的情况下施

用包含PCSK9抑制剂的药物组合物。

[0147] 例如,本发明的方法包括在不存在他汀的情况下向有需要的受试者施用包含抗-PCSK9抗体的治疗组合物。所述治疗组合物可包含如本文公开的任何抗-PCSK9抗体或其片段。

[0148] 表述“有需要的受试者”如用于本文意指这样的人或非人动物,其展现出高胆固醇血症的一种或多种症状或征兆,或已经诊断患有高胆固醇血症,或会以其他方式受益于总血清胆固醇、LDL、甘油三酯、VLDL、脂蛋白(a) [Lp(a)]的降低,或会受益于HDL的增加。可以通过本发明的治疗方法治疗的具体示例性群体包括被指示进行LDL分离术(LDL apheresis)的患者,具有PCSK9-活化(GOF)突变的受试者,具有杂合子或纯合子家族性高胆固醇血症(HeFH或HoFH)的患者;他汀不耐受或用他汀未受控制的具有原发性高胆固醇血症的受试者;和可以受到预防性治疗的有风险形成高胆固醇血症的受试者。

[0149] 尽管生活方式的改变和常规药物治疗在降低胆固醇水平方面通常是成功的,但不是所有患者都能够用这些手段达到推荐的目标胆固醇水平。尽管积极利用常规疗法,但是多种状况如家族性高胆固醇血症(FH)似乎对降低LDL-C水平有抗性。纯合子和杂合子家族性高胆固醇血症(hoFH、heFH)是与早发型动脉粥样硬化性血管病(premature atherosclerotic vascular disease)相关的状况。然而,诊断患有hoFH的患者大部分对常规药物疗法不应答并且具有有限的治疗选择。具体来说,用他汀类治疗通过抑制胆固醇合成并上调肝LDL受体来降低LDL-C,所述治疗在LDL受体不存在或有缺陷的患者中几乎没有效果。在用最大剂量的他汀类治疗的、基因型确定为hoFH的患者中,最近报道了仅为低于约20%的平均LDL-C降低。向这一方案添加依泽替米贝10mg/天导致了LDL水平27%的总降低,这仍然与最佳情况相距甚远。同样,许多患者是他汀非响应性的、用他汀治疗控制不良或不能耐受他汀治疗;大体上,这些患者无法用其他的治疗(alternative treatments)实现胆固醇控制。对于能够解决目前治疗选择短缺的新的治疗存在大量没有被满足的医学需求。

[0150] 如此,本发明包括治疗方法,其中在不存在他汀的情况下向患者施用本发明的PCSK9抑制剂以治疗或预防高胆固醇血症。如用于本文,“在不存在他汀的情况下”使用PCSK9抑制剂意指受试者在用本发明的PCSK9抑制剂治疗的同时没有在采用伴随的他汀,或者在用本发明的PCSK9抑制剂治疗之前不久没有在采用他汀。术语“在不存在他汀的情况下”和“没有在采用伴随的他汀”意指所述受试者的血流中没有可检测水平的他汀,但是由于在先疗法,所述受试者可能具有低于0.1mg/mL的血清浓度的任何他汀。如用于本文,“降脂剂”意指出于修改受试者的脂质概貌的目的施用的PCSK9抑制剂之外的任何药剂。降脂剂的实例包括但不限于:HMG-CoA还原酶抑制剂,包括他汀类(阿托伐他汀(atorvastatin)、西立伐他汀(cerivastatin)、氟伐他汀(fluvastatin)、洛伐他汀(lovastatin)、美伐他汀(mevastatin)、匹伐他汀(pitavastatin)、普伐他汀(pravastatin)、罗苏伐他汀(rosuvastatin)、辛伐他汀(simvastatin)等),烟酸,苯氧酸(fibric acid),胆汁酸螯合剂(例如,胆消胺(cholestyramine)),考来维仑(colesevelam),考来替泊(colestipol)和依泽替米贝。其遵循“非他汀降脂剂”意指PCSK9抑制剂和他汀之外的任何药剂。非他汀降脂剂的实例包括但不限于烟酸、苯氧酸、非诺贝特、胆汁酸螯合剂(例如,胆消胺)、考来维仑、考来替泊、 ω -3脂肪酸、胆汁酸树脂和依泽替米贝。

[0151] 在一些情况下,用本发明的治疗制剂治疗的患者在其他方面是健康的,除了展现

出升高水平的胆固醇、脂质、甘油三酯或脂蛋白。例如,患者在治疗之时可能不会展现出心血管、血栓或其他疾病或病症的任何其他风险因素。然而,在其他情况下,患者的选择基于被诊断患有或有风险患上由升高的血清胆固醇、脂质、甘油三酯或脂蛋白引起的、与升高的血清胆固醇、脂质、甘油三酯或脂蛋白相关的或附属于升高的血清胆固醇、脂质、甘油三酯或脂蛋白的疾病或病症。例如,在本发明的药物组合物施用之时或之前,所述患者可能被诊断患有或被鉴定为有风险形成心血管疾病或病症,如例如冠状动脉疾病、急性心肌梗死、无症状的颈动脉粥样硬化、中风、外周动脉阻塞性疾病等。在一些情况下,所述心血管疾病或病症是高胆固醇血症。例如,如果患者被诊断具有或被鉴定为有风险形成高胆固醇血症状况如例如杂合子家族性高胆固醇血症 (heFH)、纯合子家族性高胆固醇血症 (hoFH),以及不同于家族性高胆固醇血症 (nonFH) 的高胆固醇血症的发生率,那么可以选择患者用于使用本发明的药物组合物的治疗。

[0152] 在其他情况下,在本发明的药物组合物施用之时或之前,患者可能被诊断具有或被鉴定为有风险形成血栓性阻塞性疾病或病症,如例如肺栓塞、视网膜中央静脉阻塞等。在某些实施方案中,患者的选择基于被诊断具有或有风险形成上述疾病或病症中的两种或多种的组合。例如,在本发明的药物组合物施用之时或之前,患者可能被诊断具有或被鉴定为有风险形成冠状动脉疾病和肺栓塞。其他诊断组合(例如,动脉粥样硬化和视网膜中央静脉阻塞,heFH和中风,等等)也包括在可用本发明的药物组合物治疗的患者群体的定义之内。

[0153] 本发明的药物组合物还可用于治疗由根本的疾病或病症 (underlying disease or disorder) 引起或与根本的疾病或病症相关的高胆固醇血症或血脂异常,所述疾病或病症选自下组:代谢综合征、糖尿病、甲状腺机能减退、肾病综合征、肾功能衰竭、库欣综合征、胆汁性肝硬化、糖原贮积病、肝细胞瘤、胆汁郁积、生长激素缺乏。本发明的药物组合物也可用于治疗由在先的治疗方案引起或与在先治疗方案相关的高胆固醇血症或血脂异常,所述治疗方案如雌激素疗法、孕激素疗法、 β -阻断剂或利尿剂。

[0154] 在其他情况中,有待用本发明的药物组合物治疗的患者的选择基于选自下组的一种或多种因素:年龄(例如,超过40、45、50、55、60、65、70、75或80岁)、种族、性别(男性或女性)、运动习惯(例如,规律的运动员、不运动者)、其他预先存在的医学状况(例如,II型糖尿病、高血压等)和目前的用药状态(例如,目前正在采用他汀类[例如,西立伐他汀、阿托伐他汀、辛伐他汀、匹伐他汀、罗苏伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、普伐他汀等]、 β -阻断剂、烟酸等)。在用本发明的方法进行治疗之前,潜在患者的选择/筛选可以基于这些因素中的一种或多种(例如,通过问卷、诊断性评估等)。

[0155] 本发明还包括通过向受试者施用PCSK9抑制剂来增加受试者中经肠胆固醇排泄 (transintestinal cholesterol excretion) (TICE) 的方法。例如,本发明提供通过向受试者施用具有pH依赖性结合特征的抗-PCSK9抗体来增加受试者中TICE的方法。根据某些实施方案,本发明包括方法,其包括鉴定会受益于增加的TICE的受试者,或鉴定展现出受损的TICE的受试者,并向所述受试者施用PCSK9抑制剂。

[0156] 高胆固醇血症是动脉粥样硬化的先兆 (precursor)。因此,本发明还包括治疗方法,其中在不存在他汀的情况下向患者施用本发明的PCSK9抑制剂以治疗或预防动脉粥样硬化。动脉粥样硬化的风险因素是本领域熟知的,并且包括但不限于高的低密度脂蛋白 (LDL) 胆固醇水平、低的高密度脂蛋白 (HDL) 胆固醇水平、高血压、糖尿病、家族史、男性、吸

烟和高血清胆固醇。针对给定受试者评价这些风险因素的方法也是本领域熟知的。

[0157] 在某些实施方案中,选择的受试者是高脂血症的(hyperlipidemic)受试者。“高脂血症”的受试者是高胆固醇血症和/或高甘油三酯血症受试者。“高胆固醇血症”受试者是符合目前为高胆固醇血症受试者确立的标准的受试者。“高甘油三酯血症”受试者是符合目前为高甘油三酯血症受试者确立的标准的受试者(参见,例如,Harrison's Principles of Experimental Medicine,13th Edition,McGraw-Hill,Inc.,N.Y)。例如,高胆固醇血症受试者通常具有 $>160\text{mg/dL}$ 或 $>130\text{mg/dL}$ 的LDL水平和至少两种选自下组的风险因素:男性、早发型冠心病的家族史、吸烟(每天超过10支)、高血压、低HDL($<35\text{mg/dL}$)、糖尿病、高胰岛素血症、腹部肥胖、高脂蛋白(a)和脑血管疾病或阻塞性外周血管疾病的个人经历。高甘油三酯血症受试者通常具有 $>250\text{mg/dL}$ 的甘油三酯(TG)水平。在某些实施方案中,选择的受试者是高脂血症的受试者,但没有在接受用于高脂血症的治疗。

[0158] PCSK9抑制剂

[0159] 本发明的方法包括向患者施用包含PCSK9抑制剂的治疗组合物。如用于本文,“PCSK9抑制剂”是任何与人PCSK9结合或相互作用并在体外或体内抑制PCSK9的正常生物学功能的任何作用剂。PCSK9抑制剂的类别的非限定性实例包括小分子PCSK9拮抗剂、基于肽的PCSK9拮抗剂(例如,“肽体(peptibody)”分子)和特异性结合人PCSK9的抗体或抗体的抗原结合片段。

[0160] 术语“人蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(human蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型)”或“人PCSK9”或“hPCSK9”指具有SEQ ID NO:197中所示的核酸序列编码和SEQ ID NO:198的氨基酸序列的PCSK9,或其生物学活性片段。

[0161] 术语“抗原结合蛋白”意指与抗原结合的蛋白质。例如,抗原结合蛋白包括但不限于抗体、抗体的抗原结合片段、DVD-Ig和双可变结构域免疫球蛋白。

[0162] 术语“抗体”如用于本文意图指免疫球蛋白分子,其包含四条多肽链,即通过二硫键相互连接的两条重(H)链和两条轻(L)链,以及其多聚体(例如IgM)。每条重链包含重链可变区(本文缩写为HCVR或 V_H)和重链恒定区。重链恒定区包含三个结构域, C_H1 、 C_H2 和 C_H3 。每条轻链包含轻链可变区(本文缩写为LCVR或 V_L)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域(C_L1)。 V_H 和 V_L 区可以进一步细分成具有高度可变性的区域,称作互补决定区(CDR),其间为更保守的称作框架区(FR)的区域。每个 V_H 和 V_L 由三个CDR和四个FR构成,从氨基末端至羧基末端按如下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本发明的不同实施方案中,抗-PCSK9抗体(或其抗原结合部分)的FR可以与人种系序列相同,或者可以是天然或人工修饰的。氨基酸共有序列可以基于两个或更多个CDR的并排分析来定义。

[0163] 术语“抗体”还包括完整抗体分子的抗原结合片段。术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”等包括任何天然存在的、可以通过酶获得的、合成的或遗传工程化的多肽或糖蛋白,其特异性结合抗原以形成复合物。抗体的抗原结合片段可以使用任何合适的标准技术衍生自例如全长抗体分子,所述标准技术如蛋白水解消化或重组遗传工程技术,包括操作和表达编码抗体可变和任选地恒定结构域的DNA。这种DNA是已知的,并且/或者可以容易地获得自例如商业来源、DNA文库(包括,例如,噬菌体抗体文库),或者可以合成。可以化学地或通过使用分子生物学技术测序并操作DNA,例如,以将一个或多个可变和/或恒定结构域排列成合适的构象,或引入密码子、创造半胱氨酸残基、修饰、添加或缺失氨

基酸等。

[0164] 抗原结合片段的非限定性实例包括：(i) Fab片段；(ii) F(ab')₂片段；(iii) Fd片段；(iv) Fv片段；(v) 单链Fv(scFv)分子；(vi) dAb片段；和(vii) 由模拟抗体高变区的氨基酸残基组成的最小识别单元(例如，分离的互补决定区(CDR)如CDR3肽)，或受限的FR3-CDR3-FR4肽(constrained FR3-CDR3-FR4peptide)。其他工程化分子如结构域特异性抗体、单结构域抗体、结构域缺失抗体、嵌合抗体、CDR接枝抗体、双抗体、三抗体、四抗体、迷你抗体、纳米抗体(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小模块免疫药物(small modular immunopharmaceuticals; SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域也涵盖在表述“抗原结合片段”之内。

[0165] 抗体的抗原结合片段通常包含至少一个可变结构域。可变结构域可以具有任何大小或氨基酸组成，并且会通常包含与一个或多个框架序列相邻或在其框架内的至少一个CDR。在具有与V_L结构域相关的V_H结构域的抗原结合片段中，V_H和V_L结构域可以相对于彼此以任何合适的排列来定位。例如，可变区可以是二聚的并且含有V_H-V_H、V_H-V_L或V_L-V_L二聚体。或者，抗体的抗原结合片段可以含有单体V_H或V_L结构域。

[0166] 在某些实施方案中，抗体的抗原结合片段可以含有至少一个可变结构域，其与至少一个恒定结构域共价连接。可以在本发明的抗体的抗原结合片段中找到的可变和恒定结构域的非限定性示例性构型包括：(i) V_H-C_H1；(ii) V_H-C_H2；(iii) V_H-C_H3；(iv) V_H-C_H1-C_H2；(v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3；(vi) V_H-C_H2-C_H3；(vii) V_H-C_L；(viii) V_L-C_H1；(ix) V_L-C_H2；(x) V_L-C_H3；(xi) V_L-C_H1-C_H2；(xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3；(xiii) V_L-C_H2-C_H3；和(xiv) V_L-C_L。在可变和恒定结构域的任何构型包括任何上文所列的示例性构型中，可变和恒定结构域可以直接彼此连接或可以通过完整或部分铰链或接头区连接。铰链区可以由至少2个(例如5、10、15、20、40、60或更多个)氨基酸组成，其在单一多肽分子中相邻的可变和/或恒定结构域之间产生柔性或半柔性的连接。另外，本发明的抗体的抗原结合片段可以包括任何上文所列的可变和恒定结构域构型的同源二聚体或异源二聚体(或其他多聚体)，其彼此和/或与一个或多个单体V_H或V_L结构域非共价连接(例如，通过二硫键)。

[0167] 如同完整抗体分子，抗原结合片段可为单特异性或多特异性的(例如，双特异性)。抗体的多特异性抗原结合片段会通常包含至少两个不同的可变结构域，其中每个可变结构域能够特异性结合单独的抗原或相同抗原上的不同表位。任何多特异性抗体形式，包括本文公开的示例性双特异性抗体形式，可使用本领域可用的常规技术调适用于本发明抗体的抗原结合片段的背景中。

[0168] 抗体的恒定区在抗体固定补体和介导细胞依赖性细胞毒性的能力中很重要。如此，抗体的同型可以基于其对于抗体介导细胞毒性是否理想来选择。

[0169] 术语“人抗体”意图包括具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变和恒定区的抗体。虽然如此，本发明的人抗体可以包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如，通过随机或位点特异性诱变体外引入的突变或通过体内体细胞突变)，例如在CDR中并且特别是CDR3中。然而，术语“人抗体”意图包括其中CDR序列源自另一哺乳动物物种如小鼠的种系的抗体，其已经移植于人框架序列之上。

[0170] 术语“重组人抗体”意图包括通过重组手段制备、表达、创建或分离的全部人抗体，如使用转染至宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体(进一步在下文描述)，分离自重组、

组合人抗体文库的抗体(进一步在下文描述),分离自针对人免疫球蛋白基因为转基因的动物(例如,小鼠)的抗体(参见例如,Taylor等(1992)Nucl.Acids Res.20:6287-6295),或通过任何其他包括将人免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列的手段制备、表达、创建或分离的抗体。这些重组人抗体具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变和恒定区。然而,在某些实施方案中,对这些重组人抗体进行体外诱变(或者,当使用对于人Ig序列为转基因的动物时,进行体内体细胞诱变),并因此所述重组抗体的V_H和V_L区的氨基酸序列是这样的序列,其尽管源自人种系V_H和V_L序列并与之相关,但是可以不是在体内天然存在于人抗体种系库(germline repertoire)中的序列。

[0171] 人抗体可以以两种形式存在,所述两种形式与铰链异质性相关。在一种形式中,免疫球蛋白分子包含稳定的四链构建体,具有约150-160kDa,其中二聚体通过链间重链二硫键保持在一起。在第二种形式中,二聚体不通过链间二硫键连接,并且形成约75-80kDa的分子,其由共价偶联的轻链和重链构成(半抗体)。这些形式已经极难分开,即使在亲和纯化之后。

[0172] 在多种完整IgG同型中出现第二种形式的频率是因为,但不限于,与抗体的铰链区同型相关的差异。人IgG4铰链的铰链区中的单一氨基酸取代能够将第二种形式的出现显著降低(Angal等(1993)Molecular Immunology 30:105)至使用人IgG1铰链所通常观察到的水平。本发明涵盖在铰链、C_H2或C_H3区中具有一个或多个突变的抗体,其可能是理想的,例如在生产中是理想的,以改进理想抗体形式的产率。

[0173] “分离的抗体”意指已经鉴定并与其天然环境的至少一种组分分开和/或从其天然环境的至少一种组分回收的抗体。例如,已经自生物体的至少一种组分,或自所述抗体天然存在其中或天然产生所述抗体的组织或细胞分开或取出的抗体就本发明而言的是“分离的抗体”。分离的抗体还包括重组细胞内的原位抗体。分离的抗体是已经进行了至少一步纯化或分离步骤的抗体。根据某些实施方案,分离的抗体可以基本上不含其他细胞材料和/或化学物质。

[0174] 术语“特异性结合”等意指抗体或其抗原结合片段与抗体形成在生理条件下相对稳定的复合物。用于测定抗体是否特异性结合抗原的方法是本领域公知的,并且包括例如平衡透析、表面等离子体共振等。例如,“特异性结合”PCSK9的抗体在用于本发明的上下文中时包括如在表面等离子体共振测定中测量的以少于约1000nM、少于约500nM、少于约300nM、少于约200nM、少于约100nM、少于约90nM、少于约80nM、少于约70nM、少于约60nM、少于约50nM、少于约40nM、少于约30nM、少于约20nM、少于约10nM、少于约5nM、少于约4nM、少于约3nM、少于约2nM、少于约1nM或少于约0.5nM的K_D结合PCSK9或其部分的抗体。然而,特异性结合人PCSK9的分离的抗体具有与其他抗原,如来自其他(非人)物种的PCSK9分子的交叉反应性。

[0175] 用于本发明的方法的抗-PCSK9抗体如与抗体所源自的相应种系序列相比,在重链和轻链可变结构域的框架区和/或CDR区可以包含一个或多个氨基酸取代、插入和/或缺失。这些突变可以通过比较本文公开的氨基酸序列与种系序列轻易地确定,所述种系序列可以从例如公共抗体序列数据库获得。本发明包括涉及抗体及其抗原结合片段的使用的方法,所述抗体及其抗原结合片段源自本文公开的任何氨基酸序列,其中在一个或多个框架区和/或CDR区内的一个或多个氨基酸被突变成抗体所源自的种系序列的相应残基,或突变成

另一人种系序列的相应残基,或突变成相应种系残基的保守氨基酸取代(这样的序列变化在本文统称作“种系突变”)。本领域普通技术人员,从本文公开的重链和轻链可变区序列开始,能够容易地产生数种包含一种或多种独立种系突变或其组合的抗体和抗原结合片段。在某些实施方案中,将 V_H 和/或 V_L 结构域内的全部框架区和/或CDR残基突变回抗体所源自的原始种系序列中存在的残基。在其他实施方案中,仅将特定残基突变回原始种系序列,例如,仅FR1的最先8个氨基酸内或FR4的最后8个氨基酸内存在的突变的残基,或仅CDR1、CDR2或CDR3内存在的突变的残基。在其他实施方案中,将框架和/或CDR残基中的一个或多个突变成不同种系序列(即不同于所述抗体所原始源自的种系序列的种系序列)的相应残基。另外,本发明的抗体在框架区和/或CDR区内可含有两种或多种种系突变的任意组合,例如,其中将某些独立残基突变成特定种系序列的相应残基,同时将不同于原始种系序列的某些其他残基保持或突变成不同种系序列的相应残基。一旦获得,就能够容易地测试含有一种或多种种系突变的抗体和抗原结合片段的一种或多种期望的性质,如改进的结合特异性、增加的结合亲和力、改进的或增强的拮抗性或激动性生物学性质(视可能的情况而定)、降低的免疫原性等。大体上以这种方式获得的抗体和抗原结合片段的用途涵盖在本发明之内。

[0176] 本发明还包括涉及使用包含具有一个或多个保守取代的任何本文公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的变体的抗-PCSK9抗体的方法。例如,本发明包括使用具有相对于本文公开的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列具有例如10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少等保守氨基酸取代的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的抗-PCSK9抗体。

[0177] 术语“表面等离子体共振”指一种光学现象,其允许通过在生物传感器矩阵中检测蛋白浓度的变化来进行实时相互作用的分析,例如,使用BIAcore™系统(GE Healthcare的Biacore Life Sciences部门,Piscataway,NJ)。

[0178] 术语“ K_D ”意图指特定抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0179] 术语“表位”指与抗体分子可变区中称作互补位的特定抗原结合位点相互作用的抗原决定区。单个抗体可以具有超过一个表位。因此,不同抗体可以结合抗原上的不同区域并且可以具有不同的生物学效果。表位可以是有构象的或是线性的。有构象的表位通过来自线性多肽链不同区段的在空间上并置的氨基酸产生。线性表位是通过多肽链中连续的氨基酸残基产生的表位。在某些情况中,表位可以包括抗原上的糖部分、磷酸基或磺酰基。

[0180] 根据某些实施方案,本发明的方法中使用的抗-PCSK9抗体是具有pH依赖性结合特征的抗体。如用于本文,表述“pH依赖性结合”意指所述抗体或其抗原结合片段展现出“在相较于中性pH的酸性pH下与PCSK9降低的结合”(就本公开而言,两种表述可以相互交换使用)。例如,“具有pH依赖性结合特征”的抗体包括在中性pH下以高于酸性pH下的亲和力结合PCSK9的抗体及其抗原结合片段。在某些实施方案中,本发明的抗体和抗原结合片段在中性pH下以高于酸性pH下至少3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100或更多倍的亲和力结合PCSK9。

[0181] 根据本发明的这个方面,具有pH依赖性结合特征的抗-PCSK9抗体可以相对于亲本抗-PCSK9抗体具有一个或多个氨基酸变化。例如,具有pH依赖性结合特征的抗-PCSK9抗体可以在例如亲本抗-PCSK9抗体的一个或多个CDR中含有一个或多个组氨酸取代或插入。因此,根据本发明的某些实施方案,提供的方法包括施用包含这样的CDR氨基酸序列(例如,重链和轻链CDR)的抗-PCSK9抗体,所述CDR氨基酸序列与亲本抗-PCSK9抗体的CDR氨基酸序列

相同,不过用组氨酸残基取代了所述亲本抗体中的一个或多个CDR的一个或多个氨基酸。具有pH依赖性结合的抗-PCSK9抗体可以具有例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多组氨酸取代,或者在亲本抗体的单个CDR内或者遍及亲本抗-PCSK9抗体的多个(例如2、3、4、5或6个)CDR分布。例如,本发明包括使用具有pH依赖性结合的抗-PCSK9抗体,其包含亲本抗-PCSK9抗体的HCDR1中的一个或多个组氨酸取代、HCDR2中的一个或多个组氨酸取代、HCDR3中的一个或多个组氨酸取代、LCDR1中的一个或多个组氨酸取代、LCDR2中的一个或多个组氨酸取代和/或LCDR3中的一个或多个组氨酸取代。

[0182] 如用于本文,表述“酸性pH”意指6.0或更低的pH(例如,低于约6.0,低于约5.5,低于约5.0等)。表述“酸性pH”包括约6.0、5.95、5.90、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0或更低的pH值。如用于本文,表述“中性pH”意指约7.0至约7.4的pH。表述“中性pH”包括约7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35和7.4的pH值。

[0183] 人抗体的制备

[0184] 用于在转基因小鼠中生成人抗体的方法是本领域已知的。任何这样的已知的方法可以用于本发明的背景中以制备特异性结合人PCSK9的人抗体。

[0185] 使用VELOCIMMUNE™技术(参见,例如,US 6,596,541,Regeneron Pharmaceuticals)或任何其他用于生成单克隆抗体的已知技术,最初分离针对PCSK9的高亲和力嵌合抗体,其具有人可变区和小鼠恒定区。VELOCIMMUNE®技术涉及生成具有包含人重链和轻链可变区与内源小鼠恒定区基因座可操作连接的基因组的转基因小鼠,如此所述小鼠响应于抗原性刺激时产生包含人可变区和小鼠恒定区的抗体。将编码所述抗体的重链和轻链的可变区的DNA分离并与编码人重链和轻链恒定区的DNA可操作连接。然后在能够表达完整人抗体的细胞中表达所述DNA。

[0186] 通常而言,用感兴趣的抗原攻击VELOCIMMUNE®小鼠,并从表达抗体的小鼠回收淋巴细胞(如B细胞)。可将所述淋巴细胞与骨髓瘤细胞系融合以制备永生杂交瘤细胞系,并筛选和选择这些杂交瘤细胞系以鉴定产生特异性针对感兴趣的抗原的抗体的杂交瘤细胞系。可将编码重链和轻链可变区的DNA分离并与所述重链和轻链的理想的同型恒定区连接。这样的抗体蛋白可以在细胞中产生,如CHO细胞。或者,编码抗原特异性嵌合抗体或轻链和重链的可变结构域的DNA可以直接从抗原特异性淋巴细胞分离。

[0187] 最初,分离的高亲和力嵌合抗体具有人可变区和小鼠恒定区。使用本领域技术人员已知的标准流程对所述抗体进行表征并针对理想的特征进行选择,所述特征包括亲和力、选择性、表位等。将小鼠恒定区用期望的人恒定区替换以生成本发明的完整人抗体,例如野生型或修饰的IgG1或IgG4。尽管选择的恒定区可能根据特定用途而变化,但是高亲和力抗原结合和靶特异性特征存在于可变区。

[0188] 大体上,当通过与固定化在固相上或在溶液相中的抗体的结合测量时,能够在本发明的方法中使用的抗体具有高亲和力,如上所述。将小鼠恒定区用期望的人恒定区替换以生成本发明的完整的人抗体。尽管选择的恒定区可能根据特定用途而变化,但是高亲和力抗原结合和靶特异性特征存在于可变区。

[0189] 能够在本发明方法的背景中使用的特异性结合PCSK9的人抗体或抗体的抗原结合片段的特定实例包括任何包含在具有选自SEQ ID NOs:1和11的氨基酸序列或其具有至少

90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列的重链可变区(HCVR)内所含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)的抗体或抗原结合片段。所述抗体或抗原结合片段可以包含在具有选自SEQ ID NOs:6和15的氨基酸序列或其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上相似的序列的轻链可变区(LCVR)内所含的三个轻链CDR(LCVR1、LCVR2、LCVR3)。

[0190] 在本发明的某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含来自选自SEQ ID NOs:1/6和11/15的重链和轻链可变区氨基酸序列对(HCVR/LCVR)的六个CDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0191] 在本发明的某些实施方案中,可用于本发明的方法中的抗-PCSK9抗体或其抗原结合片段具有选自SEQ ID NOs:2/3/4/7/8/10(mAb316P)和SEQ ID NOs:12/13/14/16/17/18(mAb300N)的HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3氨基酸序列(参见美国专利申请公开号2010/0166768)。

[0192] 在本发明的某些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NOs:1/6和11/15的HCVR/LCVR氨基酸序列对。

[0193] 药物组合物和施用方法

[0194] 本发明包括方法,所述方法包括在不存在他汀的情况下向受试者施用PCSK9抑制剂,其中所述PCSK9抑制剂包含在药物组合物之内。本发明的药物组合物用合适的载体、赋形剂和其他提供合适的输送、递送、耐受性等的作用剂配制。大量合适的制剂可在所有药物化学家已知的制剂表:Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA中找到。这些制剂包括,例如,粉剂、糊剂、软膏、胶状物、蜡状物、油、脂质、含有脂质(阳离子的或阴离子的)的囊泡(如LIPOFECTINTM)、DNA缀合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳剂、乳剂碳蜡(carbowax)(多种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有碳蜡(carbowax)的半固体混合物。还参见Powell等"Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA(1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311。

[0195] 多种递送系统是已知的并且能够用于施用本发明的药物组合物,例如,封装于脂质体、微粒、微囊、能够表达突变体病毒的重组细胞、受体介导的胞吞作用(参见,例如,Wu等,1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432)。施用方法包括但不限于皮内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外和口服途径。可以通过任何方便的途径施用所述组合物,例如通过输注或团注,通过经由上皮或皮肤黏膜衬里(例如,口腔黏膜、直肠和肠粘膜等)的吸收,并且可以与其他生物学活性剂一起施用。

[0196] 本发明的药物组合物可以用标准针头和注射器皮下或静脉内递送。此外,就皮下递送而言,笔型递送装置容易地具有在递送本发明的药物组合物方面的应用。这样的笔型递送装置可以是可重复使用的或一次性的。可重复使用的笔型递送装置通常利用含有药物组合物的可替换药筒。一旦药筒内的药物组合物已经全部施用而药筒变空,就可容易地弃去空药筒并用含有所述药物组合物的新药筒替换。然后所述笔型递送装置能够被重复使用。在一次性笔型递送装置中,没有可替换的药筒。相反,一次性笔型递送装置开始预先填充了容纳在装置内的储器中的药物组合物。一旦储器中的药物组合物空掉,则弃去整个装置。

[0197] 数种可重复使用的笔型和自注射型递送装置(autoinjector delivery device)

在本发明的药物组合物的皮下递送中具有应用。实例包括但不限于AUTOPENTM (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONICTM笔 (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25¹m笔、HUMALOGTM笔、HUMALIN 70/30TM笔 (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPENTMI, II和III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIORTM (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BDTM笔 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPENTM, OPTIPEN PROTM, OPTIPEN STARLETTM和OPTICLIKTM (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany), 不一而足。在皮下递送本发明的药物组合物中有一有用的一次性笔型递送装置的实例包括但不限于SOLOSTARTTM笔 (sanofi-aventis)、FLEXPENTM (Novo Nordisk) 和KWIKPENTM (Eli Lilly)、SURECLICKTM自注射器 (Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLETTM (Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN (Dey, L.P.) 和HUMIRATM笔 (Abbott Labs, Abbott Park IL), 不一而足。

[0198] 在某些实施方案中, 药物组合物在受控的释放系统中递送。在某些实施方案中, 可以使用泵 (参见Langer, supra; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201)。在另一实施方案中, 可以使用聚合材料; 参见, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (编), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida。在又一个实施方案中, 受控的释放系统可以置于组合物的靶标附近, 由此仅需要系统剂量的一部分 (参见, 例如, Goodson, 1984, 于Medical Applications of Controlled Release, 同上, vol. 2, pp. 115-138)。其他受控的释放系统在Langer, 1990, Science 249:1527-1533的综述中讨论。

[0199] 可注射制备物可包括用于静脉内、皮下、皮内和肌内注射、滴注等的剂量形式。这些可注射制备物可以通过已知的方法制备。例如, 所述可注射制备物可以例如通过将上述抗体或其盐溶解、悬浮或乳化在常规用于注射的无菌水性介质或油性介质中来制备。作为用于注射的水性介质, 例如有生理盐水、含有葡萄糖和其他辅助剂的等渗溶液等, 其可以与合适的增溶剂如醇 (例如, 乙醇)、多元醇 (例如, 丙二醇、聚乙二醇)、非离子表面活性剂 [例如, 聚山梨酯80、HCO-50 (氢化蓖麻油的聚氧乙烯 (50mol) 加合物)] 等组合使用。作为油性介质, 采用的有例如芝麻油、大豆油等, 其可以与增溶剂如苯甲酸苄酯、苄醇等组合使用。在某些实施方案中, 由此制备的注射剂装填在合适的安瓿中。在某些实施方案中, 药学上可接受的赋形剂是组氨酸pH6.0、聚山梨酯20和蔗糖的组合。

[0200] 有利地, 将上述用于口服或胃肠外用途的药物组合物制成适合于配合活性成分剂量的单位剂量的剂量形式。这样以单位剂量的剂量形式包括, 例如, 片剂、丸剂、胶囊、注射剂 (安瓿)、栓剂等。

[0201] 剂量和施用方案

[0202] 通常, 根据本发明的方法和组合物向受试者施用的PCSK9抑制剂 (例如, 抗-PCSK9抗体) 的量是治疗有效量。短语“治疗有效量”意指导致高胆固醇血症或相关病症的一种或多种症状 (例如, 脂质水平和/或动脉粥样硬化损伤) 有可检测的减少的PCSK9抑制剂的剂量。

[0203] 单个剂量内含有的抗-PCSK9抗体的量可以依照每千克患者体重的抗体毫克数 (即, mg/kg) 表示。例如, 抗-PCSK9抗体可以以约0.0001至约10mg/kg患者体重的剂量向患者施用。抗体的示例性治疗有效量可以为约75mg、约80mg、约90mg、约100mg、约110mg、约120mg、约130mg、约140mg、约150mg、约160mg、约170mg、约180mg、约190mg、约200mg、约

210mg、约220mg、约230mg、约240mg、约250mg、约260mg、约270mg、约280mg、约290mg、约300mg、约310mg、约320mg、约330mg、约340mg、约350mg、约360mg、约370mg、约380mg、约390mg、约400mg、约410mg、约420mg、约430mg、约440mg、约450mg、约460mg、约470mg、约480mg、约490mg、约500mg、约510mg、约520mg、约530mg、约540mg、约550mg、约560mg、约570mg、约580mg、约590mg或约600mg的抗-PCSK9抗体。

[0204] 在某些实施方案中,以每四周约150mg的剂量向受试者施用所述抗-PCSK9抗体,持续至少三个剂量。

[0205] 在一些实施方案中,以每四周约150mg的剂量向受试者施用所述抗体,持续12周,并且如果在第8周时所述受试者的LDL-C值低于100mg/dl且LDL-C降低30%,那么将所述剂量保持在每四周150mg,持续额外12周。

[0206] 在其他实施方案中,以每四周约150mg的剂量向受试者施用所述抗体,持续12周,并且如果在第8周时所述受试者的LDL-C值高于或等于100mg/dl,那么将所述剂量增量滴定至约每两周150mg,持续额外12周。

[0207] 在一些实施方案中,以每四周约150mg的剂量向受试者施用所述抗体,持续12周,并且如果在第8周时所述受试者的LDL-C值低于70mg/dl且LDL-C降低30%,那么将所述剂量保持在每四周150mg,持续额外12周。

[0208] 在另一实施方案中,以每四周约300mg的剂量向受试者施用所述抗体,持续48周。

[0209] 在进一步的实施方案中,以每四周约300mg的剂量向受试者施用所述抗体,持续总共三个剂量,并且如果在第8周时,所述受试者没有达到预定的治疗目标或所述受试者不具有距离基线至少30%的LDL-C降低,那么将所述剂量变为每两周150mg,持续额外的36周。

[0210] 附加疗法

[0211] 在一些实施方案中,本发明涉及用于增加受试者中蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(PCSK9)拮抗剂的作用持续时间的方法,包括在不存在他汀的情况下向所述受试者施用抗PCSK9拮抗剂。在一些实施方案中,拮抗剂是抗体或抗原结合蛋白。例如,实施例显示在不存在他汀的情况下向受试者施用抗-PCSK9抗体增加了抗-PCSK9抗体的作用持续时间。

[0212] 在一些实施方案中,本发明涉及用于在受试者中在整个给药间间隔期间保持恒定的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)降低的方法,包括向没有采用伴随的他汀的受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量。如图1中所示,现有技术疗法在治疗过程中展现出LDL-C的“锯齿型概貌”。与之相对,Q4W给药方案在整个给药间间隔期间在没有接受他汀的患者中维持了恒定的LDL-C降低。

[0213] 在一些实施方案中,本发明涉及在有需要的受试者中降低低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的方法,包括向没有采用伴随的他汀的受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗-蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量,由此降低受试者中的LDL-C。

[0214] 在一些实施方案中,本发明涉及在有需要的患者中治疗高胆固醇血症的方法,包括向没有采用伴随的他汀的受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗-蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂

量,由此治疗受试者中的高胆固醇血症。

[0215] 在一些实施方案中,本发明涉及在有需要的受试者中治疗不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式的方法,包括向所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗-蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量,由此治疗所述受试者中不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式。

[0216] 如此,根据某些实施方案,本发明的方法包括在不存在他汀的情况下,向受试者施用包含抗-PCSK9抗体的药物组合物。

[0217] 根据某些实施方案,本发明的方法还包括与另一种非他汀类降脂剂组合向受试者施用包含抗-PCSK9抑制剂的药物组合物。

[0218] 降脂剂包括例如抑制胆固醇摄入和/或胆汁酸再吸收的作用剂(如依泽替米贝);增加脂蛋白分解代谢的作用剂(如烟酸);和/或在胆固醇消除中起作用的LXR转录因子激活剂如22-羟基胆固醇。

[0219] 在一些实施方案中,在施用本发明的药物组合物之前,所述受试者曾经用过用于治疗高胆固醇血症的治疗方案。例如,在施用包含抗-PCSK9抗体的药物组合物之前,先前被诊断患有高胆固醇血症的患者可能已经被开具了且在采用另一种药物的稳定的治疗方案。

[0220] 在一些实施方案中,在用本文描述的PCSK9抑制剂治疗之前,所述受试者先前用他汀或其他降脂剂进行了治疗。在其他实施方案中,所述受试者先前没有用他汀或其他降脂剂进行过治疗。

[0221] 示例性实施方案

[0222] 一方面,本公开提供在有需要的受试者中降低低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的方法,所述方法包括向没有采用伴随的他汀的所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量,由此降低所述受试者中的LDL-C。

[0223] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NOs:1/6和11/15的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的重链和轻链互补决定区(CDR)。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18的重链和轻链CDR氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCVR。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCVR。

[0224] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体结合PCSK9上相同的表位。

[0225] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体竞争结合PCSK9。

[0226] 在某些实施方案中,所述受试者患有不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式(nonFH)。在某些实施方案中,所述受试者患有杂合子家族性高胆固醇血症(heFH)。在某

些实施方案中,heFH的诊断通过基因分型或临床标准做出。在某些实施方案中,所述临床标准是用于杂合子家族性高胆固醇血症的Simon Broome注册诊断标准(Simon Broome Register Diagnostic Criteria),或WHO/荷兰脂质网络(Dutch Lipid Network)标准,其中评分>8。

[0227] 在某些实施方案中,所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中正在使用非他汀类降脂剂。在某些实施方案中,所述非他汀类降脂剂选自下组:依泽替米贝(ezetimibe)、贝特类(a fibrate)、非诺贝特(fenofibrate)、烟酸、 ω -3脂肪酸和胆汁酸树脂。

[0228] 在某些实施方案中,所述非他汀类降脂剂是依泽替米贝或非诺贝特。

[0229] 在某些实施方案中,所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中没有在使用非他汀类降脂剂。

[0230] 在某些实施方案中,皮下施用所述抗体或抗原结合蛋白。

[0231] 在某些实施方案中,如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \leq 70mg/dL,那么保持每四周约150mg的剂量。在某些实施方案中,如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C $>$ 70mg/dL,那么中断每4周约150mg的剂量,并且随后向所述受试者以每2周约150mg的剂量施用所述抗体或抗原结合蛋白。

[0232] 另一方面本公开提供在有需要的受试者中治疗高胆固醇血症的方法,所述方法包括向没有采用伴随的他汀的所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量,由此治疗所述受试者中的高胆固醇血症。

[0233] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NOs:1/6和11/15的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的重链和轻链互补决定区(CDR)。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18的重链和轻链CDR氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCVR。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCVR。

[0234] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体结合PCSK9上相同的表位。

[0235] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体竞争结合PCSK9。

[0236] 在某些实施方案中,所述受试者患有不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式(nonFH)。在某些实施方案中,所述受试者患有杂合子家族性高胆固醇血症(heFH)。在某些实施方案中,heFH的诊断通过基因分型或临床标准做出。在某些实施方案中,所述临床标准是用于杂合子家族性高胆固醇血症的Simon Broome注册诊断标准(Simon Broome Register Diagnostic Criteria),或WHO/荷兰脂质网络(Dutch Lipid Network)标准,其

中评分>8。

[0237] 在某些实施方案中,所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中正在使用非他汀类降脂剂。在某些实施方案中,所述非他汀类降脂剂选自下组:依泽替米贝、贝特类、非诺贝特、烟酸、 ω -3脂肪酸和胆汁酸树脂。

[0238] 在某些实施方案中,所述非他汀类降脂剂是依泽替米贝或非诺贝特。

[0239] 在某些实施方案中,所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中没有在使用非他汀类降脂剂。

[0240] 在某些实施方案中,皮下施用所述抗体或抗原结合蛋白。

[0241] 在某些实施方案中,如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \leq 70mg/dL,那么保持每4周约150mg的剂量。在某些实施方案中,如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C $>$ 70mg/dL,那么中断每4周约150mg的剂量,并且随后向所述受试者以每2周约150mg的剂量施用所述抗体或抗原结合蛋白。

[0242] 另一方面本公开提供在有需要的受试者中治疗不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式的方法,所述方法包括向所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量,由此治疗所述受试者中不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式。

[0243] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NOs:1/6和11/15的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的重链和轻链互补决定区(CDR)。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18的重链和轻链CDR氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCVR。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCVR。

[0244] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体结合PCSK9上相同的表位。

[0245] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体竞争结合PCSK9。

[0246] 在某些实施方案中,所述受试者患有不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式(nonFH)。在某些实施方案中,所述受试者患有杂合子家族性高胆固醇血症(heFH)。在某些实施方案中,heFH的诊断通过基因分型或临床标准做出。在某些实施方案中,所述临床标准是用于杂合子家族性高胆固醇血症的Simon Broome注册诊断标准(Simon Broome Register Diagnostic Criteria),或WHO/荷兰脂质网络(Dutch Lipid Network)标准,其中评分>8。

[0247] 在某些实施方案中,所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中正在使用非他汀类降脂剂。在某些实施方案中,所述非他汀类降脂剂选自下组:依泽替米贝、贝特类、非诺贝特、烟酸、 ω -3脂肪酸和胆汁酸树脂。

[0248] 在某些实施方案中,所述非他汀类降脂剂是依泽替米贝或非诺贝特。

[0249] 在某些实施方案中,所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中没有在使用非他汀类降脂剂。

[0250] 在某些实施方案中,皮下施用所述抗体或抗原结合蛋白。

[0251] 在某些实施方案中,如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \leq 70mg/dL,那么保持每4周约150mg的剂量。在某些实施方案中,如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C $>$ 70mg/dL,那么中断每4周约150mg的剂量,并且随后向所述受试者以每2周约150mg的剂量施用所述抗体或抗原结合蛋白。

[0252] 另一方面本公开提供抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的给药方案,其在人受试者中在整个给药间间隔期间保持恒定的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)降低,所述人受试者在以每4周约150mg的剂量施用抗-PCSK9抗体或其抗原结合蛋白持续至少3个剂量之后,具有选自下组的一种或多种特性:(a)约250mg·天/L至约650mg·天/L的从时间零点至实时使用梯形法计算的血浆浓度对时间曲线下面积(AUC_{last});(b)约15mg/L至约33mg/L的最大血浆浓度观察值(C_{max});(c)约7天的第一次达到最大血浆浓度的时间(t_{max});和(d)约5.5天至约12天的达到终末半衰期的时间(t_{1/2}^Z)。

[0253] 另一方面本公开提供抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的给药方案,其在人受试者中在整个给药间间隔期间保持恒定的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)降低,所述人受试者在以每4周约150mg的剂量施用抗-PCSK9抗体或其抗原结合蛋白持续至少3个剂量之后,具有选自下组的一种或多种特性:(a)约150mg·天/L至约450mg·天/L的从时间零点至实时使用梯形法计算的血浆浓度对时间曲线下面积(AUC_{last});(b)约10.5mg/L至约24mg/L的最大血浆浓度观察值(C_{max});(c)约7天的第一次达到最大血浆浓度的时间(t_{max});和(d)约5天至约9天的达到终末半衰期的时间(t_{1/2}^Z)。

[0254] 另一方面本公开提供在受试者中在整个给药间间隔期间保持恒定的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)降低的方法,所述方法包括向没有采用伴随的他汀的所述受试者以每4周约150mg的剂量施用包含抗蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型(抗-PCSK9)抗体或抗原结合蛋白的药物组合物,持续至少3个剂量。

[0255] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含选自SEQ ID NOs:1/6和11/15的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的重链和轻链互补决定区(CDR)。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18的重链和轻链CDR氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的LCVR。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列。在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的LCVR。

[0256] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体结合PCSK9上相同的表位。

[0257] 在某些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段与包含具有SEQ ID NOs:12、13、14、16、17和18;或SEQ ID NOs:2、3、4、7、8和10的重链和轻链CDR氨基酸序列的抗体竞争结

合PCSK9。

[0258] 在某些实施方案中,所述受试者患有不是家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症形式(nonFH)。在某些实施方案中,所述受试者患有杂合子家族性高胆固醇血症(heFH)。在某些实施方案中,heFH的诊断通过基因分型或临床标准做出。在某些实施方案中,所述临床标准是用于杂合子家族性高胆固醇血症的Simon Broome注册诊断标准(Simon Broome Register Diagnostic Criteria),或WHO/荷兰脂质网络(Dutch Lipid Network)标准,其中评分>8。

[0259] 在某些实施方案中,所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中正在使用非他汀类降脂剂。在某些实施方案中,所述非他汀类降脂剂选自下组:依泽替米贝、贝特类、非诺贝特、烟酸、 ω -3脂肪酸和胆汁酸树脂。

[0260] 在某些实施方案中,所述非他汀类降脂剂是依泽替米贝或非诺贝特。

[0261] 在某些实施方案中,所述受试者在所述抗体或抗原结合蛋白的施用之前和/或过程中没有在使用非他汀类降脂剂。

[0262] 在某些实施方案中,皮下施用所述抗体或抗原结合蛋白。

[0263] 在某些实施方案中,如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C \leq 70mg/dL,那么保持每四周约150mg的剂量。在某些实施方案中,如果在4个或更多个剂量之后测量的受试者的LDL-C $>$ 70mg/dL,那么中断每4周约150mg的剂量,并且随后向所述受试者以每2周约150mg的剂量施用所述抗体或抗原结合蛋白。

实施例

[0264] 提供以下实施例从而为本领域普通技术人员提供对如何制备和使用本发明的方法和组合物的完整公开和说明,并且不意欲限定发明人认为是其发明的范围。

[0265] 实施例1:生成针对人PCSK9的人抗体

[0266] 人抗-PCSK9抗体如美国专利号8,062,640中所述生成。下文实施例中使用的示例性PCSK9抑制剂是称为“Alirocumab”的人抗-PCSK9抗体。Alirocumab具有下列氨基酸序列特征:包含SEQ ID NO:90的重链可变区(HCVR);包含SEQ ID NO:92的轻链可变结构域(LCVR);包含SEQ ID NO:76的重链互补决定区1(HCDR1);包含SEQ ID NO:78的HCDR2;包含SEQ ID NO:80的HCDR3;包含SEQ ID NO:84的轻链互补决定区1(LCDR1);包含SEQ ID NO:86的LCDR2;和包含SEQ ID NO:88的LCDR3。

[0267] Alirocumab是一种结合蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶kexin 9型(PCSK9)的完全人单克隆抗体。蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶kexin 9型属于丝氨酸蛋白酶的枯草杆菌蛋白酶家族并且在肝中高表达。PCSK9参与调节低密度脂蛋白受体(LDLR)蛋白的水平。在动物和 humans 中,Alirocumab降低循环中的LDL-C水平。Alirocumab可能是降低LDL-C和降低心血管病风险的有效治疗。

[0268] 实施例2:在健康受试者中单独地或在作为多个口服剂量施用的依泽替米贝或非诺贝特之外作为多个150mg皮下剂量施用的Alirocumab的药效学概貌的随机化、部分盲、3平行组研究

[0269] 介绍

[0270] 在健康受试者中进行了1期临床试验来评估抗-PCSK9抗体Alirocumab的药效学和

安全性。该研究的主要目的是基于低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 评价单独或在依泽替米贝或非诺贝特之外施用的Alirocumab的药效概貌。该研究的次要目标是:1) 基于其他脂质参数评价单独或在依泽替米贝或非诺贝特之外施用的Alirocumab的药效学概貌,2) 评价单独或在依泽替米贝或非诺贝特之外施用的Alirocumab的药代动力学概貌,3) 记录暴露于依泽替米贝和非诺贝特的情况,4) 评价依泽替米贝或非诺贝特对PCSK9水平的影响,和5) 评价伴随施用Alirocumab与或者依泽替米贝或者非诺贝特的安全性。

[0271] 此项1期研究是随机化、部分盲、有对照研究,以3个平行组进行,具有使用或者依泽替米贝或非诺贝特或者安慰剂依泽替米贝的4周的准备期(run-in period),继之以17周的治疗期(即:组A:Alirocumab+依泽替米贝安慰剂,组B:Alirocumab+依泽替米贝,组C:Alirocumab+非诺贝特)。该研究调查了组合150mg Q4W以及依泽替米贝(EZE)和非诺贝特(FENO)对降LDL-C效果的影响以及对游离PCSK9和总Alirocumab的循环水平的影响。

[0272] 受试者

[0273] 该研究评估了72名健康受试者。纳入标准为:健康男性或女性受试者,年龄18至65周岁,在筛选时(第-29天)血清LDL-C水平 $>130\text{mg/dL}$ 、未在接受降脂疗法,并且在第-1天(开始Alirocumab之前)在基线对照处的血清LDL-C水平 $\geq 100\text{mg/dL}$ 。(注意:出于实际的原因,在D-1取得用于测量基线LDL-C的血液样品,以验证受试者在开始用Alirocumab的治疗之前仍具有 $\geq 100\text{mg/dL}$ 的LDL-C水平)。

[0274] 将七十二名受试者随机化至三个组,每组24名受试者。关于所述受试者的基线特征示于表1。

[0275] 表1.基线(第-29天)处的患者特征

治疗组	Alirocumab 150 mg Q4W + 安慰剂 (N=24)	Alirocumab 150 mg Q4W + EZE (N=24)	Alirocumab 150 mg Q4W + FENO (N=24)
年龄(岁), 平均值(SD)	48.5 (12.8)	49.5 (10.7)	54.6 (7.6)
男性(%)	46	46	42
体重指数(kg/m^2), 平均值(SD)	23.9 (2.0)	25.5 (2.7)	24.7 (2.5)
LDL-C 计算值(mg/dL), 平均值(SD)	183.3 (38.7)	181.7 (37.1)	180.6 (31.3)
总胆固醇(mg/dL), 平均值(SD)	264.5 (43.7)	250.6 (40.6)	263.7 (40.6)
载脂蛋白 B (g/L), 平均值(SD)	1.3 (0.21)	1.3 (0.22)	1.3 (0.17)
非-HDL-C (mg/dL), 平均值(SD)	198.4 (40.6)	200.3 (39.8)	199.5 (31.7)
HDL-C (mg/dL), 平均值(SD)	65.7 (12.4)	60.3 (13.1)	64.2 (15.5)
甘油三酯(mg/dL), 中值(范围)	78.8 (44.3–177.1)	95.7 (35.4–168.3)	94.8 (53.1–194.9)
脂蛋白(a) (g/L), 中值(范围)	0.27 (0.0–1.6)	0.33 (0.0–1.6)	0.17 (0.0–1.5)
游离 PCSK9 (ng/L), 平均值(SD)	146.5 (54.3)	150.7 (48.5)	152.1 (54.1)

[0277] HDL-C, 高密度脂蛋白胆固醇;SD, 标准差

[0278] 研究治疗

[0279] 将Alirocumab配制为150mg/ml的溶液以供注射。将Alirocumab皮下施用。Alirocumab以150mg的剂量施用,每四周1次注射,总共三次注射。

[0280] 将依泽替米贝配制为10mg过度封装的片剂(over-encapsulated tablet)(和匹配的安慰剂依泽替米贝胶囊)。依泽替米贝口服施用。将依泽替米贝以10mg剂量施用,每日一次施用,总共持续21周(4周准备期,之后是初次施用Alirocumab之后的17周)。

[0281] 将非诺贝特以160mg包衣片剂配制。将非诺贝特在进餐期间口服施用。将非诺贝特以160mg的剂量施用,每日施用一次,总共持续21周(4周准备期,之后是初次施用Alirocumab之后的17周)。

[0282] 治疗的持续时间如下。受试者在准备期期间(第-28至-1天)并且在整个治疗期(第1至120天)接受了重复剂量(每日剂量)的依泽替米贝或非诺贝特或安慰剂依泽替米贝,并且在持续的依泽替米贝或非诺贝特或安慰剂依泽替米贝之外接受了重复剂量的Alirocumab(第1、29和57天)。

[0283] 观察的持续时间长达每名受试者最多25周(从筛选至研究结束[EOS]访视),其包括3周的筛选期、4周的准备期、17周的治疗期和EOS访视(依泽替米贝、安慰剂或非诺贝特的末次剂量之后最少4天)。

[0284] 评估标准

[0285] 药效学标准如下。主要终点为距离基线(D-29)的血清LDL-C计算值的百分比变化。次要终点为计算的LDL-C、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、非-HDL-C、甘油三酯(TG)、载脂蛋白B(ApoB)、载脂蛋白A1(ApoA1)和脂蛋白a(Lp[a])距离基线的绝对变化,以距离基线的百分比和绝对变化进行分析。

[0286] 使用非房室方法(non-compartmental model)计算了Alirocumab的以下药代动力学(PK)参数:最大血清浓度观察值(C_{\max})、重复给药过程中临治疗施用之前的血清浓度(C_{trough})、第29日时的血清浓度观察值(C_{D29})、从时间零点至实时使用梯形法计算的血清浓度对时间曲线下面积(AUC_{last})、外推至无穷的血清浓度对时间曲线下面积(AUC)、达到 C_{\max} 的时间(t_{\max})、从时间零点至第14天使用梯形法计算的血清浓度对时间曲线下面积(AUC_{0-14})、从时间零点至第29天使用梯形法计算的血清浓度对时间曲线下面积(AUC_{0-28})、与末端斜率相关的终末半衰期($t_{1/2z}$)、对应于定量限之上的最后浓度的时间(t_{last})、药物从血清的表观全身清除率(apparent total body clearance)(CL/F)、在稳定状态的分布体积($V_{\text{ss/F}}$)、分子保留在身体内的平均时间(MRT)和终末期的分布体积($V_{z/F}$)。测量了总血清Alirocumab浓度、总体和游离蛋白原转化酶枯草杆菌蛋白酶kexin9型(PCSK9)浓度和抗Alirocumab抗体。

[0287] 经由受试者主动报告的或研究者观察到的不良事件(AE;包括局部耐受性(local tolerability))、临床实验室评估(生化、血液学、凝血和尿液分析)、生命体征评价(心率、收缩压和舒张压)、体重、身体检查、12导联心电图(ECG)自动现场记录、尿液药物筛查;酒精呼吸或血浆检测;女性中的 β -人绒毛膜促性腺激素水平;和免疫原性(抗Alirocumab抗体效价)评价来监测受试者的安全性。

[0288] 药效学采样时间

[0289] 在早晨空腹条件(至少10小时的禁食和禁烟)下摄入任何药物之前为脂质参数(即,LDL-C、TC、HDL-C、非-HDL-C、TG、ApoB、ApoA1、Lp[a])进行血液采样。

[0290] 在筛选时;准备阶段的第-1天;以及治疗阶段的第8、15、22、29 \pm 1、57 \pm 1、64 \pm 1、71 \pm 1、78 \pm 1、85 \pm 1、99 \pm 2和120 \pm 3天收集血液样品。

[0291] 药代动力学采样时间和生物分析方法

[0292] 用于测定Alirocumab以及总PCSK9和游离PCSK9的药代动力学血液样品在准备阶段的第-28天和第-15 \pm 2天(仅总PCSK9和游离PCSK9的测定);在治疗阶段的第1、8、15、22、

29、57、64、71、78、85、99、120天;和EOS访视时收集。

[0293] 用于测定总体和未缀合依泽替米贝以及非诺贝特酸(fenofibric acid)的药代动力学血液样品在准备阶段的第-28天、第-15天和第-1天;在治疗阶段的第1、29、57和64天时收集。

[0294] 用于测定血清中抗药物抗体(ADA)水平的样品在准备阶段的第-28天;在治疗阶段的第29、57、85和120天;和EOS访视时收集。

[0295] Alirocumab的血清浓度使用经验证的酶联免疫吸附测定(ELISA)法测定,定量下限(LLoQ)为0.078 μ g/mL。

[0296] 总体的和未缀合的依泽替米贝以及非诺贝特酸的血浆浓度使用经验证的液相色谱及串联质谱(LC-MS/MS)方法测定,定量下限分别为0.2ng/mL、0.04ng/mL和49.9ng/mL。

[0297] 使用经验证的电化学发光测定分析抗Alirocumab抗体样品,用于测定经酸处理的人血清中的抗Alirocumab抗体效价。基于样品的最小稀释,对于任何抗Alirocumab抗体阳性样品的最小效价为30。在纯(neat)血清样品中,经验证的检测下限大约为1.5ng/mL。

[0298] 总结

[0299] 群体特征

[0300] 研究群体包括72名受试者(每个治疗组24名);为年龄21至65岁之间的32名男性和40名女性受试者。

[0301] 药效学结果

[0302] 在准备期(第-29天至第-1天)期间依泽替米贝和非诺贝特组中的LDL-C以相似方式下降,在第-1天在依泽替米贝和非诺贝特组中分别达到-19.8(2.1)%和-25.9(3.2)%,并且在安慰剂组中保持稳定(第-1天为+1.6(3.0)%(图2)。准备期之后,从第1天施用Alirocumab的治疗产生了进一步的降低,大于依泽替米贝和非诺贝特组。LDL-C中的相对变化在3个治疗组中是平行的,直至第15天,随后从第15天起在非诺贝特组中开始了中度的再次增加,同时在依泽替米贝组中更为稳定直到第22天,从那时开始也看到了轻微的再次增加。这种趋势在单独使用Alirocumab的组中没有观察到,在该组中LDL-C的降低是持续的。与第1次剂量之后观察到的降低相比,Alirocumab的第3次施用产生了LDL-C的进一步降低,并且在第3次施用Alirocumab之后在第71天(施用之后14天)在全部治疗组中实现了最大的作用($p<0.0001$),无论考虑哪个基线(第-29天或第-1天),并且其表现类似于在依泽替米贝和非诺贝特组中在第1次施用之后21天看到的(图2和3;表2)。在单独的Alirocumab、依泽替米贝和非诺贝特组中最大的降低分别为-47.59%、-65.34%和-66.75%(距离第-29天基线的变化)。使用距离第-1天基线的变化,在单独的Alirocumab、依泽替米贝和非诺贝特组中最大的降低分别为-47.39%、-56.56%和-54.34%。在第3次施用Alirocumab之后第28天(即:第85天),对于单独施用Alirocumab、或与依泽替米贝一起或与非诺贝特一起施用而言降低分别为-47.03%、-49.57%和-43.17%(距离第-1天基线)。参见图2和3。

[0303] 整体治疗效果是显著的($p<0.0001$)。配对比较显示单独的Alirocumab和与依泽替米贝共同施用的Alirocumab之间的差异在全部时间点保持显著(图2)。单独的Alirocumab和与非诺贝特共同施用的Alirocumab之间的差异在全部时间点也保持显著,除了在第99天时(CI:-13.8174至0.1219%)。

[0304] 如图4中所示,与依泽替米贝共同施用的Alirocumab相对于单独的Alirocumab以

及与非诺贝特共同施用的Alirocumab相对于单独的Alirocumab的平均估值之间的差异的分析在整个研究的时间过程中没有在非诺贝特和依泽替米贝组之间显示出任何差异。TC的相对变化与LDL-C的变化平行。就TG和HDL-C二者而言治疗效果均是显著的。与单独的Alirocumab相比,非诺贝特产生了HDL-C的增加和TG的减少,其在大多数时间点是持续且显著的,而与单独的Alirocumab相比,依泽替米贝组中的变化大体上不显著。

[0305] 对其他脂质参数的效果总结于表2。表2显示:1) 使用单独的Alirocumab从主要第-29天基线至第71天的平均百分比 (SEM) 降低为-48.2 (2.3) %,使用Alirocumab+EZE和+FENO分别为-65.3 (2.0) %和-66.8 (2.7) %;并且2) 使用单独的Alirocumab从第-1天基线至第71天的平均百分比 (SEM) LDL-C降低为-47.4 (3.2) %,而使用Alirocumab+EZE和+FENO分别为-56.6 (2.5) %和-54.3 (3.5) %。

[0306] 表2. 从第-29天基线和第-1天基线至第71天 (第3个Alirocumab剂量之后14天) 其他脂质参数的平均 (SEM) 百分比变化

治疗组	主要基线(第-29天) (从安慰剂、EZE 或 FENO 准备期的起始起)			另外的基线(第-1天) (从 Alirocumab 注射的起始起; 安慰剂 /EZE/FENO 治疗持续)		
	Alirocumab 150 mg Q4W + 安慰 剂(N=24)	Alirocumab 150 mg Q4W + EZE (N=24)	Alirocumab 150 mg Q4W + FENO (N=24)	Alirocumab 150 mg Q4W + 安 慰剂 (N=24)	Alirocumab 150 mg Q4W + EZE (N=24)	Alirocumab 150 mg Q4W + FENO (N=24)
LDL-C	-48.2 (2.3)	-65.3 (2.0)	-66.8 (2.7)	-47.4 (3.2)	-56.6 (2.5)	-54.3 (3.5)
总胆固醇	-31.6 (1.4)	-45.7 (1.5)	-46.1 (1.9)	-31.5 (2.6)	-36.5 (1.4)	-32.4 (2.2)
非-HDL-C	-43.0 (1.7)	-60.6 (1.9)	-64.4 (2.5)	-43.0 (2.7)	-51.9 (2.1)	-50.5 (3.2)
载脂蛋白 B	-39.1 (1.5)	-53.5 (1.8)	-58.3 (2.1)	-38.4 (2.4)	-44.9 (2.0)	-44.6 (2.5)
HDL-C	3.3 (3.4)	5.4 (3.2)	12.3 (3.1)	3.6 (2.9)	6.4 (3.1)	8.7 (3.0)
甘油三酯*	5.7 (-48.5 至 266.7)	-13.8 (-53.4 至 53.5)	-36.0 (-57.9 至 11.3)	-3.9 (-41.3 至 77.6)	-16.5 (-37.2 至 24.2)	-3.5 (-58.0 至 74.1)
脂蛋白(a)*	-20.3 (-63.2 至 33.3)	-27.0 (-71.4 至 35.8)	-19.9 (-57.6 至 38.3)	-11.7 (-58.8 至 160.9)	-9.2 (-67.0 至 66.7)	-20.4 (-56.8 至 17.7)

[0308] *中值 (范围)

[0309] 图5是一组四幅图,显示了游离PCSK9的平均水平,将三个治疗组一起比较,并按照治疗组与距离第-29天基线的LDL-C的百分比变化比较。

[0310] 图6是一组三幅图,显示距离第-29天基线的LDL-C的百分比变化,以及第57天 (第3次Alirocumab注射的时间) 至第85天 (第3次Alirocumab注射的28天后) 的游离PCSK9水平和总Alirocumab。

[0311] 在安慰剂准备期期间 (即, Alirocumab治疗之前), FENO导致游离PCSK9水平从152增加至217ng/mL。相应的游离PCSK9的变化在安慰剂组中是从147至119ng/mL,且在EZE组中为从151至142ng/mL (图5A)。

[0312] 游离PCSK9的完全抑制在第1次和第3次Alirocumab注射之后 (在第2次注射之后没有进行测量) (图5A)。

[0313] 在Alirocumab注射之后7至15天,游离PCSK9的水平在FENO组中再次增加,并且在EZE组中以与单独的Alirocumab组相比较低的程度再次增加(图5A)。这些增加与EZE和FENO组中观察到的效力的中度增加相对应(图5B-D;和图6A+B中的特写图)。

[0314] 对应于游离PCSK9的变化,Alirocumab暴露在FENO存在下降低(几何平均值比[95%置信区间],相对于单独的Alirocumab:0.64[0.53至0.77]),并且在EZE存在下降低(0.85[0.70至1.03],相对于单独的Alirocumab)(图6C)。

[0315] 安全性结果

[0316] 在研究过程中没有死亡或SAE。TEAE的发生率在3个治疗组之间类似(在单独的Alirocumab、依泽替米贝和非诺贝特组中分别为50.0%、58.3%和50.0%)。仅1名受试者具有强度严重的TEAE,记录在非诺贝特组中(肾绞痛,持续约11个小时,发生在末次施用Alirocumab之后64天,并被认为是与治疗不相关)。最常见的TEAE(即记录在任何治疗组内≥2名受试者中)为头痛(在单独的Alirocumab、依泽替米贝和非诺贝特组中分别为3/24、5/24和2/24名受试者)、鼻咽炎(在单独的Alirocumab、依泽替米贝和非诺贝特组中分别为3/24、4/24和4/24名受试者)、流感(在单独的Alirocumab、依泽替米贝和非诺贝特组中分别为2/24、0/24和1/24名受试者)、病毒性胃肠炎(gastroenteritis viral)(在单独的Alirocumab、依泽替米贝和非诺贝特组中分别为0/24、0/24和2/24名受试者)、流感样疾患(在单独的Alirocumab、依泽替米贝和非诺贝特组中分别为1/24、3/24和1/24名受试者)和腹痛(在单独的Alirocumab、依泽替米贝和非诺贝特组中分别为2/24、1/24和1/24名受试者)。全部其他TEAE在3个组中是零星的。

[0317] 生命体征方面罕有PCSA,在3个治疗组中发生率低。在ECG参数方面罕有PCSA,然而没有记录QTc>450ms(男性)或QTc>470ms(女性),并且没有检测到QTc的延长(定义为距离基线的增加>60ms)。生命体征或ECG参数方面的这些异常无一被认为是临床显著的。

[0318] 在血液学和生物化学参数方面罕有PCSA,在3个治疗组中发生率低。这些异常无一被认为是临床显著的,除了在单独Alirocumab组的1名受试者中肌酸酐蛋白激酶(CPK)增加>10倍正常上限(ULN)。在EOS随访时记录的这个CPK增加被认为与体育运动相关,并作为AE申报。在肝功能检测中没有PCSA。

[0319] 不存在严重不良事件(AE)或因AE造成的中断。治疗引发的不良事件(TEAE)总结于表3。

[0320] Alirocumab+FENO组中的一名患者具有严重强度的TEAE(肾绞痛),其没有被研究者认为与研究治疗相关。

[0321] 在此项研究中没有观察到生命体征、心电图、血液学或生物化学参数中的临床显著变化。Alirocumab+安慰剂组中的一名受试者展现出肌酸磷酸激酶>10倍正常上限的增加,其被研究者认为与体育运动相关(表3)。

[0322] 表3. 安全性总结

治疗组	Alirocumab 150 mg Q4W + 安慰剂 (N=24)	Alirocumab 150 mg Q4W + EZE (N=24)	Alirocumab 150 mg Q4W + FENO (N=24)
具有任何 TEAE 的患者, n (%)	12 (50.0)	14 (58.3)	12 (50.0)
最常见的 TEAEs (记录在任何组内≥2 名受试者中), n (%)			
头痛	3 (12.5)	5 (20.8)	2 (8.3)
[0323] 鼻咽炎	3 (12.5)	4 (16.7)	4 (16.7)
流感	2 (8.3)	0 (0)	1 (4.2)
病毒性胃肠炎	0 (0)	0 (0)	2 (8.3)
流感样疾患	1 (4.2)	3 (12.5)	1 (4.2)
腹痛	2 (8.3)	1 (4.2)	1 (4.2)

[0324] 免疫原性结果

[0325] 单独Alirocumab组中24名受试者中的4名(16.7%)、依泽替米贝组中6/24名受试者(25%)和非诺贝特组中7/24(29.2%)名受试者被检测为ADA阳性,效价范围在30(最小可检测效价)至240之间。在第29天依泽替米贝组内的一名受试者中检测到了240的单一效价,在第85天降低至30的效价。在第120天,在该名受试者中检测不到ADA的。全部其他测量的ADA效价较低,并且对于全部其他ADA阳性受试者在30至120之间。

[0326] 在全部组中,4名受试者在给药前样品中显示出ADA阳性效价。这提示这些患者在所述测定中展现出治疗前免疫反应性,而不一定是相应于研究药物施用的治疗引发的ADA。仅1名治疗前阳性受试者(非诺贝特组)在基线后时间段中具有增加的效价,其中120的最大效价在第29天和第120天。

[0327] 药代动力学(PK)结果

[0328] 按照Q4W重复的150mg Alirocumab SC剂量,Alirocumab的PK参数的描述性统计结果提供在下表中(表4-6)和图7中。

[0329] 表4

[0330]

第 1 天血清中 Alirocumab PK 参数的平均值 ± SD (几何平均值) [CV%]			
平均值 ± SD (几何平均值) [CV%]	血清 Alirocumab		
	Alirocumab Q4W 150mg SC + 安慰剂	Alirocumab Q4W 150mg SC + 非诺贝特	Alirocumab Q4W 150mg SC + 依泽替米贝
N	24	24	24
C _{max} (mg/l)	20.4 ± 13.5 (18.3) [66.2]	14.6 ± 4.06 (14.1) [27.7]	18.2 ± 5.68 (17.3) [31.2]
C _{D29} [*] (mg/l)	6.06 ± 2.91 (5.45) [48.0]	3.40 ± 2.05 (2.73) [60.4]	4.04 ± 2.25 (3.49) [55.6]
t _{max} ^a (day)	7.00 (6.96 - 7.01)	7.00 (6.97 - 7.01)	7.00 (6.97 - 7.19)
AUC _{last} (mg•天/l)	326 ± 125 (306) [38.4]	233 ± 75.5 (221) [32.3]	274 ± 87.4 (261) [31.8]
AUC _{0-D28} ^{**} (mg•天/l)	326 ± 125 (306) [38.4]	233 ± 75.5 (221) [32.3]	274 ± 87.4 (261) [31.8]
AUC (mg•天/l)	357 ± 210 (318) [58.9] ^b	241 ± 84.6 (227) [35.0] ^c	291 ± 92.9 (277) [31.9] ^c
AUC _{Ext} ^{***} (%)	25 ± 11 (22) [44.7]	15 ± 9 (12) [57.6]	17 ± 11 (15) [62.6]
^a 中值(Min - Max)			
^b n=8,			
^c n=18, * 在研究第 29 天(施用后 28 天)血清中的浓度			
** 研究第 1 天和第 29 天之间计算的部分 AUC (PK 时间零点至第 28 天)			
*** AUC 的外推百分比			

[0331] 表5

在 3 次 Alirocumab 施用之后，在第 57 天血清中 Alirocumab PK 参数的平均值±SD (几何平均值) [CV%]				
	平均值 ±SD (几何平均值) [CV%]	血清 Alirocumab		
		Alirocumab Q4W 150mg SC + 安慰剂	Alirocumab Q4W 150mg SC + 非诺贝特	Alirocumab Q4W 150mg SC + 依泽替米贝
N		24	24	24
C _{max} (mg/l)		24.3 ± 8.61 (22.9) [35.5]	17.1 ± 6.66 (15.9) [38.9]	21.9 ± 8.91 (20.5) [40.6]
C _{D29} [*] (mg/l)		7.07 ± 4.66 (6.00) [66.0]	4.08 ± 3.18 (2.89) [77.9]	5.08 ± 3.26 (4.02) [64.3]
t _{max} ^a (天)		7.00 (0.00 - 7.00)	7.00 (6.97 - 7.99)	7.00 (6.96 - 13.98)
t _{last} ^a (天)		69.00 (42.00 - 77.05)	63.00 (28.00 - 69.00)	64.99 (41.95 - 70.07)
t _{1/2z} (天)		8.76 ± 3.12 (8.37) [35.7]	7.07 ± 1.68 (6.88) [23.8]	6.72 ± 1.56 (6.55) [23.3]
AUC _{0-D28} ^{**} (mg•天/l)		445 ± 189 (414) [42.3]	292 ± 138 (259) [47.3]	364 ± 143 (338) [39.4]
CL/F (l/天)		0.312 ± 0.124 (0.285) [39.6]	0.595 ± 0.414 (0.496) [69.6]	0.409 ± 0.176 (0.372) [43.0]
V _{ss} /F (l)		5.46 ± 1.83 (5.19) [33.4]	8.44 ± 4.18 (7.62) [49.5]	6.27 ± 2.17 (5.91) [34.6]
MRT (天)		18.5 ± 3.84 (18.2) [20.7]	15.6 ± 2.78 (15.4) [17.8]	16.1 ± 2.62 (15.9) [16.3]
^a 中值(Min - Max)				
[*] 在研究第 85 天血清中的浓度 (第 3 次施用之后 28 天)				
^{**} 研究第 57 天和第 85 天之间计算的部分 AUC (PK 时间零点至第 28 天)				

[0332]

[0333] 表6

对于治疗期[D1-D29]具有 90%置信区间的几何平均值比的点估值				
治疗期	参数	比较	估值	90%CI
[D1-D29]	C _{max}	Alirocumab+依泽替米贝 vs 单独的 Alirocumab	0.97	(0.82 至 1.14)
		Alirocumab+非诺贝特 vs 单独的 Alirocumab	0.78	(0.66 至 0.92)
	AUC	Alirocumab+依泽替米贝 vs 单独的 Alirocumab	0.86	(0.67 至 1.11)
		Alirocumab+非诺贝特 vs 单独的 Alirocumab	0.73	(0.57 至 0.95)
	AUC _{last}	Alirocumab+依泽替米贝 vs 单独的 Alirocumab	0.88	(0.76 至 1.03)
		Alirocumab+非诺贝特 vs 单独的 Alirocumab	0.74	(0.64 至 0.86)
	AUC _{0-D28}	Alirocumab+依泽替米贝 vs 单独的 Alirocumab	0.88	(0.76 至 1.03)
		Alirocumab+非诺贝特 vs 单独的 Alirocumab	0.74	(0.64 至 0.86)

对于治疗期[D57-D126]具有 90%置信区间的几何平均值比的点估值				
治疗期	参数	比较	估值	90% CI
[D57-D126]	C _{max}	Alirocumab+依泽替米贝 vs 单独的 Alirocumab	0.92	(0.78 至 1.09)
		Alirocumab+非诺贝特 vs 单独的 Alirocumab	0.71	(0.60 至 0.84)
	AUC _{0-D28}	Alirocumab+依泽替米贝 vs 单独的 Alirocumab	0.85	(0.70 至 1.03)
		Alirocumab+非诺贝特 vs 单独的 Alirocumab	0.64	(0.53 至 0.77)
	t _{1/2z}	Alirocumab+依泽替米贝 vs 单独的 Alirocumab	0.80	(0.72 至 0.90)
		Alirocumab+非诺贝特 vs 单独的 Alirocumab	0.83	(0.74 至 0.93)

[0334]

[0335] 在第1次注射之后，在比较Alirocumab+依泽替米贝与单独的Alirocumab时

Alirocumab C_{\max} 值相似,点估值为0.97 (90%CI=0.82至1.14)。然而观察到点估值为0.88 (90%CI=0.76至1.03)的 AUC_{0-D28} 降低的趋势。在比较Alirocumab+非诺贝特与单独的Alirocumab时Alirocumab血清暴露降低,对于 C_{\max} 和 AUC_{0-D28} 点估值分别为0.78 (90%CI=0.66至0.92)和0.74 (90%CI=0.64至0.86)。

[0336] 第3次注射之后,在比较Alirocumab+依泽替米贝与单独的Alirocumab时Alirocumab C_{\max} 值相似,点估值为0.92 (90%CI=0.78至1.09)。观察到 AUC_{0-D28} 降低,点估值为0.85 (90%CI=0.70至1.03)。对比单独的Alirocumab组在Alirocumab+依泽替米贝中观察到较短半衰期的趋势(对比 8.76 ± 3.12 天的 6.72 ± 1.56 天),点估值为0.80 (90%CI=0.72至0.90)。

[0337] 在比较Alirocumab+非诺贝特与单独的Alirocumab时Alirocumab血清暴露保持降低,对于 C_{\max} 和 AUC_{0-D28} 点估值分别为0.71 (90%CI=0.60至0.84)和0.64 (90%CI=0.53至0.77)。当比较Alirocumab+非诺贝特与单独的Alirocumab组时,平均半衰期是减少的,点估值为0.83 (90%CI=0.74至0.93)。针对Alirocumab+非诺贝特和单独的Alirocumab组分别计算出 7.07 ± 1.68 天和 8.76 ± 3.12 天的半衰期。

[0338] 结论

[0339] 在准备期期间观察到的使用单独的EZE和FENO疗法的LDL-C降低符合预期。

[0340] Alirocumab 150mg Q4W单一疗法导致~48%的LDL-C降低(不考虑基线),其在28天的给药间隔中持续。Alirocumab与EZE或FENO的组合导致比单独的Alirocumab更大的LDL-C降低:1)距离主要基线(其包括28天使用安慰剂、EZE或FENO的准备期)的最大降低使用EZE或FENO时为~65%;2)使用另外的基线(从第一次Alirocumab注射起)的相应降低使用EZE或FENO时为~55%。

[0341] 使用单独FENO和EZE(程度较小)的治疗导致与安慰剂相比游离PCSK9的中度增加。

[0342] 在FENO组合组中用Alirocumab给药之后从14天至28天观察到效力的轻微减少,可能是因为FENO施用时间观察到的游离PCSK9水平的增加导致Alirocumab暴露降低的结果。使用EZE组合时看上去也是如此,但程度较低。

[0343] 之前的研究提示,伴随的他汀疗法经由增加的靶介导的清除而降低Alirocumab效力的持续时间,需要每2周一次的给药来克服这点。此项研究提示其他LLT(EZE、FENO)可能对Alirocumab效力的持续时间影响较小,并因此能够以更低/更不频繁的剂量使用Alirocumab。

[0344] 基于之前的经验对其他脂质参数的效果符合预期,并且在所有组中报告了类似的TEAE发生率。

[0345] 此项研究的结果提示,EZE和FENO疗法导致游离PCSK9水平的中度增加,这可能解释了Alirocumab施用时间LDL-C稍微更大的降低,以及这种最大效果的持续时间的中度减少。然而,这些数据说明,不同于与同他汀类组合的情况,在单一疗法和与非他汀类LLT组合的配置中,Alirocumab 150mg可以Q4W给药。

[0346] 在单独的Alirocumab、依泽替米贝和非诺贝特组中的最大减少分别为-47.59%、-65.34%和-66.75%(距离第-29天基线的变化)。在健康受试者中单独或在依泽替米贝(10mg/天)或非诺贝特(160mg/天)之外施用Alirocumab 150mg Q4W产生了LDL-C降低,与Alirocumab前基线值相比,在第3次施用Alirocumab之后14天在单独的Alirocumab、依泽替

米贝和非诺贝特组中分别达到-47.39%、-56.56%和-54.34%。在第3次施用Alirocumab之后28天仍然在单独的Alirocumab、依泽替米贝和非诺贝特组中观察到了-47.03%、-49.57%和-43.17%的降低。这提示在单独施用Alirocumab时效果得到保持,而在两种组合组中,在给药后2周和4周之间观察到与最大效果相比的小变化。Alirocumab与依泽替米贝或非诺贝特的共同施用 LDL-C 中产生了相似的降低。

[0347] 当比较Alirocumab+依泽替米贝与单独的Alirocumab时, C_{max} 值类似,在Alirocumab+依泽替米贝治疗组中存在 AUC_{0-D28} 更低的不显著趋势,并因此在该组中有更快的消除。

[0348] Alirocumab PK参数通过共同施用非诺贝特显著降低。160mg非诺贝特的每日剂量如上所述降低了血清中的Alirocumab暴露。分析治疗中 t_{max} 中值差异没有显示差异。

[0349] ADA的发生率和效价对于3个治疗组是类似的。在3个治疗组内的ADA阳性和阴性的受试者中Alirocumab的血清浓度是相当的。

[0350] 在整个研究期间确认了血浆中依泽替米贝或非诺贝特的连续暴露。

[0351] 在健康受试者中,单独或在依泽替米贝或非诺贝特之外以150mg Q4W的剂量施用、持续3次施用的Alirocumab是被良好耐受的。

[0352] 实施例3:在具有原发性高胆固醇血症但未用他汀类治疗的患者中评估Alirocumab的效力和安全性的随机化、双盲、以安慰剂为对照的平行组研究

[0353] 剂量的选择

[0354] 基于用他汀作为背景疗法进行的研究的结果,Q2W给药方案适合于在用他汀治疗的患者中在整个给药间间隔期间维持恒定的LDL-C降低,最大效力在第12周时,由150mg Q2W给药提供。然而,对于许多患者,用150mg Q2W剂量观察到的效果的程度可能不需要达到靶LDL-C目标,并且可采用以更少的剂量开始。

[0355] 在此项研究中将会评估的用于Alirocumab的150mg Q4W给药方案是基于在没有接受伴随的他汀的患者中观察到的更长的作用持续时间。经他汀刺激的增加的PCSK9产生可能影响Alirocumab的作用持续时间,因为更高的PCSK9产生率可导致更大的靶标介导的抗体清除。与他汀类相比,依泽替米贝和贝特类似乎对PCSK9水平具有极少的作用或不具有作用,并且预期Q4W给药方案会在整个给药间间隔期间在不接受他汀但接受这些降脂疗法的患者中保持充分的LDL-C降低。

[0356] 方案设计的理念

[0357] 本研究的目的是评价Alirocumab 150mg Q4W作为在不用他汀类治疗的患者中的潜在起始剂量的效力和安全性。当前的研究会针对每4周一次的给药方案并在接受依泽替米贝或非诺贝特的背景疗法或仅仅饮食的患者中提供关于效力、安全性和耐受性的信息。

[0358] 此项研究中选择的患者无一会接受他汀类。当前研究中的群体的一个组成部分是他汀不耐受患者。

[0359] 整体上,目标为2/3的患者应接受使用依泽替米贝或非诺贝特的背景疗法。

[0360] 在此项研究中,患者保持他们的依泽替米贝或非诺贝特背景疗法或仅仅饮食,他们不接受/不能接受他汀类,在双盲治疗期中选择安慰剂作为对照似乎适合于此项研究的目的,因为其会提供对150mg Q4W的效力和安全性最鲁棒的评价。Alirocumab 75mg Q2W的校准组会为起始剂量提供基准。

[0361] 为了帮助根据患者的需要调整在3期项目中Alirocumab的给药方案,在大多数研究中以预期在稳态提供50%的LDL-C降低的剂量起始Alirocumab(75mg Q2W项目)。在全部以75mg Q2W作为起始剂量的研究中,基于在第8周时实现的LDL-C水平,将剂量在第12周时增加至150mg Q2W。在非他汀治疗的患者中评价作为潜在起始剂量的150mg Q4W的当前研究中,视需要进行的增量滴定(up-titration)也会在第12周进行,正如在所述项目的全部其他研究中一样。在整个项目中,视需要在进行了滴定之后评价主要效力。在此项研究中,会在第24周时评价主要效力参数。12周效力评价(即,在增量滴定之前)会是重要的考虑,并且会因此作为关键次要终点分析。

[0362] 认为将24周的持续时间用于双盲期足以提供关于包括150mg Q4W作为起始剂量的给药方案的安全性信息,因为对Alirocumab的暴露(C_{max} 和AUC)会处于在更长的持续时间中用75mg Q2W和150mg Q2W所观察到的结果之间,对此会有大型数据库可用。在滴定后时间段中,没有达到LDL-C目标的患者会接受150mg Q2W,正如项目中的剩余部分一样。为了使用这种Q4W给药获得额外的安全性数据,患者可以从第24周起参与任选的开放标签治疗期直到2016年6月。

[0363] 进行这项具体的研究来证明在未使用他汀类治疗的患有原发性高胆固醇血症的患者中,与安慰剂相比,使用包括Alirocumab 150mg Q4W作为起始剂量、作为非他汀调脂背景疗法(依泽替米贝或非诺贝特)的附加疗法或仅与饮食一起的方案的安全性和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的降低。使用最优化LMT(依泽替米贝或非诺贝特)或仅使用饮食的未处于LDL-C目标的他汀不耐受群体代表了具有鉴定出的没有得到满足的医疗需求的组,这种需求可以通过将Alirocumab添加至他们的降LDL-C疗法来解决。在24周的双盲治疗期结束时,可在选择进入任选的开放标签治疗期的患者中视需要调整背景疗法。

[0364] 研究目的

[0365] 所述研究的主要目的是证明在没有用他汀类治疗的、患有原发性高胆固醇血症的患者中,与安慰剂相比,通过包括150mg Q4W的Alirocumab起始剂量作为非他汀调脂背景疗法的附加疗法或作为单一疗法的方案的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)降低。

[0366] 次要目的是:评估与安慰剂相比,150mg Q4W作为起始剂量的Alirocumab对其他脂质参数(例如,载脂蛋白B(ApoB)、非高密度脂蛋白胆固醇(非-HDL-C)、总-胆固醇(TC)、脂蛋白(a)(Lp[a])、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、甘油三酯(TG)和载脂蛋白A-1(Apo A-1)水平的效果;评估Alirocumab 150mg Q4W的安全性和耐受性;评估抗Alirocumab抗体的形成;和评估Alirocumab 150mg Q4W的药代动力学(PK)。

[0367] 其他目的是评估75mg Alirocumab的Q2W给药方案的效力和安全性。

[0368] 研究设计

[0369] 这是一项随机化、双盲、安慰剂对照的平行组多中心3期研究。会根据他汀不耐受状态和非他汀调脂背景疗法进行随机化分层。仅会包括不接受他汀类的患者。处于在群体部分中如下定义的中等、高或非常高CV风险中的他汀不耐受患者会代表目标为大约50%的研究群体。对于该试验将他汀不耐受性定义为不能耐受至少两种他汀类:一是最低每日起始剂量的他汀(定义为罗苏伐他汀5mg、阿托伐他汀10mg、辛伐他汀10mg、洛伐他汀20mg、普伐他汀40mg、氟伐他汀40mg或匹伐他汀2mg或作为国家特异性标签批准的最低每日剂量),而另一是任意剂量的他汀,原因是骨骼肌肉相关症状(除了因为拉伤和外伤的那些),如痛

(pain)、疼(ache)、虚弱或抽筋,其在他汀疗法过程中开始或增加,并在他汀疗法中断时停止。处于中等CV风险中、不满足SI定义的患者会构成研究群体的剩余部分。

[0370] 对于背景疗法,目标为大约2/3的患者会接受背景疗法(非诺贝特或依泽替米贝),并且多至1/3的患者会仅用饮食处理。

[0371] 研究包括四个时期:

[0372] 1) 长达3周的筛选期,

[0373] 2) 24周的双盲、平行组治疗期,在此期间患者会接受如下的双盲研究治疗:

[0374] Alirocumab 150mg,皮下,每4周一次*

[0375] 或

[0376] 用于Alirocumab的安慰剂,皮下,每2周一次

[0377] 或

[0378] Alirocumab 75mg,皮下,每2周一次。

[0379] *在与安慰剂SC Q4W交替的每4周一次Alirocumab 150mg中会保持盲性。

[0380] 在第12周访视时,基于他们在第8周的LDL-C和基线CV风险,患者会以盲的方式或者继续接受Alirocumab 150mg Q4W或75mg Q2W或者会对他们的剂量进行增量滴定,如下:

[0381] i) 具有非常高CV风险的患者会以盲的方式:

[0382] 或者从第12周起继续接受Alirocumab 150mg Q4W或75mg Q2W,直到第22周时的末次注射,如果他们的第8周LDL-C<70mg/dL (1.81mmol/L) 并且他们在第8周时具有距离基线至少30%的LDL-C降低;或者

[0383] 从第12周起接受增量滴定至Alirocumab 150mg Q2W的剂量,直到第22周时的末次注射,如果他们的第8周LDL-C \geq 70mg/dL (1.81mmol/L) 或他们在第8周时不具有距离基线至少30%的LDL-C降低。

[0384] ii) 具有高或中等CV风险的患者会以盲的方式:

[0385] 或者从第12周起继续接受Alirocumab 150mg Q4W或75mg Q2W,直到第22周时的末次注射,如果他们的第8周LDL-C<100mg/dL (2.59mmol/L) 并且他们在第8周时具有距离基线至少30%的LDL-C降低;或者

[0386] 从第12周起接受增量滴定至Alirocumab 150mg Q2W的剂量,直到第22周时的末次注射,如果他们的第8周LDL-C \geq 100mg/dL (2.59mmol/L) 或他们在第8周时不具有距离基线至少30%的LDL-C降低。

[0387] 3) 在双盲治疗期结束后8周的随访期。

[0388] 在双盲治疗期结束之后会跟踪没有开放标签治疗期资格的患者达8周的时期,如果他们不选择或没有资格参与开放标签治疗期。8周随访期不适用于有资格并选择参与开放标签治疗期的患者。

[0389] 4) 任选的开放标签治疗期。

[0390] 成功完成双盲治疗期的患者会有资格(条件是他们不曾经历任何治疗相关的AE或具有显著的方案偏离)进入任选的开放标签治疗期。

[0391] 患者会在开放标签治疗期开始时接受Alirocumab 150mg Q4W。开放标签治疗期期间的第一次注射会在第24周访视时(开放标签治疗期的第一次访视)当场施用。

[0392] 从第36周访视起,基于在第32周时的LDL-C值,研究者会基于其自身的判断来管理

对Alirocumab剂量的调整。在第36周时,患者或者会继续接受Alirocumab 150mg Q4W,或者会接受增量滴定至Alirocumab 150mg Q2W的剂量。会允许后续减量滴定至150mg Q4W。

[0393] 尽管如果可能应该使背景疗法保持稳定,但是可以基于研究者的判断对它们进行调整,特别是在有耐受性问题的情况下。

[0394] 对于基于LDL-C值进行的调整,研究者可以视需要修改背景疗法。然而,应当避免同时调整Alirocumab剂量和任何LMT。

[0395] 用于这些患者的治疗会从双盲治疗期期间研究药物的末次剂量(第22周)至第24周(开放标签治疗期中的第一次剂量)起往后持续不间断,直到2016年6月。

[0396] 研究参与的持续时间

[0397] 研究持续时间包括长达3周的筛选期、用于效力和安全性评价的24周双盲治疗期和DBTP的最后一次访视之后8周的治疗后随访期(对于没有开放标签治疗期资格的患者)。如此,每名患者的研究持续时间是35周+任选的开放标签治疗期。8周随访期不适用于有资格并选择参与了开放标签治疗期的患者。成功完成双盲治疗期的患者有资格(条件是他們不曾经历任何治疗相关的AE或具有显著的方案偏离)进入任选的开放标签治疗期。

[0398] 患者的选择

[0399] 满足以下全部标准的患者会被考虑参与所述研究。患有原发性高胆固醇血症(heFH或non-FH)、接受非诺贝特或依泽替米贝或仅仅饮食的患者。在所述研究中仅会包括没有接受他汀类的患者,其对应于如下患者:具有中等、高或非常高CV风险的如下定义不耐受他汀类*的患者;或满足SI定义的患者。仅处于中等CV风险的患者会包括在该层中。

[0400] *他汀不耐受性定义为不能耐受至少2种他汀类:1种是最低每日起始剂量的他汀(定义为罗苏伐他汀5mg、阿托伐他汀10mg、辛伐他汀10mg、洛伐他汀20mg、普伐他汀40mg、氟伐他汀40mg或匹伐他汀2mg或作为国家特异性标签批准的最低每日剂量),和另一种任意剂量的他汀,原因是骨骼肌肉相关症状(除了因为拉伤和外伤的那些),如痛(pain)、疼(ache)、虚弱或抽筋,其在他汀疗法过程中开始或增加,并在他汀疗法中断时停止。

[0401] 将中等CV风险定义为10年致死CVD风险SCORE计算值 ≥ 1 且 $< 5\%$ (ESC/EAS2012)。

[0402] 将高CV风险定义为10年致死CVD风险SCORE计算值 $\geq 5\%$ (ESC/EAS2012),或中度慢性肾病(CKD),或1型或2型糖尿病但没有靶器官损伤,或heFH(NCEP-ATP III,ESC/EAS2012)。

[0403] 将非常高CV风险定义为记录在案的CHD史、缺血性中风、外周动脉疾病(PAD)、短暂性缺血发作(TIA)、腹主动脉瘤、颈动脉阻塞 $> 50\%$ 但无症状、颈动脉内膜切除术或颈动脉支架术、肾动脉狭窄、肾动脉支架术、1型或2型糖尿病但无靶器官损伤(NCEP-ATP III,ESC/EAS2012)。

[0404] 记录在案的CHD史(包括以下一种或多种):急性MI、寂静型MI(silent MI)、不稳定型心绞痛、冠状动脉血管再造术(例如,经皮冠状动脉介入[PCI]或冠状动脉旁路移植术[CABG])和通过侵入性或非侵入性检测(如冠状动脉造影术、使用跑步机的压力测试、压力超声心动图或核成像)诊断的临床显著性CHD。

[0405] 针对排除标准筛选满足了全部上述纳入标准的患者。用于双盲期的排除标准是:定义为他汀不耐受和非常高CV风险在筛选访视时(第-3周,V1)LDL-C $< 70\text{mg/dL}$ (1.81mmol/L)的患者;定义为他汀不耐受和高或中等CV风险在筛选访视时(第-3周,V1)LDL-C $< 100\text{mg/}$

dL ($<2.59\text{mmol/L}$) 的患者;不满足他汀不耐受定义并且处于中等CV风险在筛选访视时(第-3周,V1)LDL-C $<100\text{mg/dL}$ ($<2.59\text{mmol/L}$) 的患者;在筛选访视时(第-3周,V1)LDL-C $\geq 160\text{mg/dL}$ ($\geq 4.1\text{mmol/L}$) 的患者,如果仅接受饮食则无论他汀不耐受状态为何,或者如果不满足他汀不耐受性定义则是处于中等CV风险并用依泽替米贝或非诺贝特治疗;在筛选访视时(第-3周,V1)10年致死CVD风险SCORE $<1\%$ (ESC/EAS2011);新诊断的(随机化访视前3个月内[第0周])或控制不良(HbA1c $>9\%$)的糖尿病;在筛选访视(第-3周)的4周之内或在筛选和随机化访视之间使用他汀、红曲米产品、烟酸或胆汁酸螯合剂;在筛选访视(第-3周,V1)之前或在筛选和随机化访视之间没有采用稳定剂量的依泽替米贝或非诺贝特达至少4周;在筛选访视(第-3周,V1)的4周之内或在筛选和随机化访视之间使用非诺贝特之外的贝特类;在筛选访视(第-3周,V1)之前或在筛选和随机化访视之间,以不稳定的剂量/量使用已知影响脂质的营养品或非处方疗法达至少4周;在研究期间计划进行安排的PCI、CABG、颈动脉或外周血管再造;筛选时(第-3周,V1)和/或随机化(第0周)访视时收缩压(BP) $>160\text{mmHg}$ 或舒张BP $>100\text{mmHg}$;在过去12个月内纽约心脏协会(New York Heart Association)III或IV类心力衰竭的历史;在筛选访视(第-3周,V1)之前3个月内的MI、导致住院的不稳定型心绞痛、CABG、PCI、未受控制的心律失常、颈动脉手术或支架术、中风、短暂性缺血发作、颈动脉血管再造术、血管内手术或针对外周血管疾病的手术介入的历史;已知的出血性中风史;筛选访视(第-3周,V1)时年龄 <18 岁或法定成人年龄,以更大者为准;筛选访视(第-3周,V1)之前没有被在先指导进行降胆固醇饮食的患者;存在已知影响血清脂质或脂蛋白的任何临床显著的未受控制的内分泌疾病;筛选访视(第-3周,V1)之前12个月内的减肥手术史;由筛选访视(第-3周,V1)之前2个月内变化 $>5\text{kg}$ 所定义的体重不稳定;已知的杂合子FH史;已知的PCSK9功能丧失(即,遗传突变或序列变异)史;使用系统性皮质类固醇,除非用作垂体/肾上腺疾病的替代疗法,并且在随机化之前以稳定方案进行至少6周;过去5年内的癌症史,除非是经充分治疗的基底细胞皮肤癌、鳞状细胞皮肤癌或原位宫颈癌;已知的阳性HIV检测史;在1个月或5个半衰期内(以较长者为准)采用了任何活性研究药物的患者;之前已经在其他临床试验中用至少一个剂量的Alirocumab或任何其他抗PCSK9单克隆抗体治疗过的患者;使用连续的激素替代疗法,除非该方案已经在筛选访视(Week-3)之前6周稳定并且没有在研究过程中改变该方案的计划;在筛选期放弃知情同意的患者(不愿意继续或无法返回的患者);状况/情况或实验室发现如:在筛选之时鉴定的任何临床显著的异常,在研究者或任何助理研究者的判断下其会阻碍研究安全完成或限制终点评价,如主要的系统性疾病,具有短生命预期的患者,被研究者或任何助理研究者认为出于任何原因不适合此项研究的患者,例如:按照患者或研究者、研究者或任何助理研究者、药剂师、研究协调员、其他研究人员或直接参与方案实施的他们的亲属等等,被视为不能满足特定方案要求如安排的访视的那些患者,被视为不能施用或耐受长期注射的那些患者,存在任何其他实际的或预期的研究者感觉会约束或限制患者参与研究过程的状况(例如,地理上的、社会上的……);筛选期期间的实验室发现(不包括随机化实验室):乙肝表面抗原或丙肝抗体检测阳性,在有生育能力的女性中血清或尿液妊娠(包括第0周)检测阳性,甘油三酯 $>400\text{mg/dL}$ ($>4.52\text{mmol/L}$) (允许1次重复实验室),根据4变量MDRD研究等式的eGFR $<30\text{mL/min/1.73m}^2$ (由中央实验室计算),ALT或AST $>3\text{xULN}$ (允许1次重复实验室),CPK $>3\text{xULN}$ (允许1次重复实验室),TSH $<\text{LLN}$ 或 $>\text{ULN}$ (对于进行甲状腺替代疗法的患者,参见更早的排除标准);已知的对单克隆抗体或

药物产品的任何组分的超敏性;和妊娠或哺乳的女性(有生育能力但没有通过高效节育方法保护的女性(如知情同意书表格中和/或在本地补充协议中所定义)和/或不愿或无法进行妊娠测试的女性)。

[0406] 用于开放标签期的排除标准是:基于研究者的判断在双盲期显著偏离方案,如患者的不顺从;经历了导致双盲期永久中断的不良事件的任何患者;具有任何新的状况或已有状况恶化的患者,所述新的状况或已有状况的恶化在研究者看来会使该患者不适合被纳入,或者可能干扰患者参与或完成研究;已知对单克隆抗体或药物产品中的任何组分的超敏性;在双盲期的末次访视时(W24,访视11)妊娠检测阳性;和不愿维持高效节育方法(如知情同意书表格中和/或在本地补充协议中所定义)和/或不愿或不能进行妊娠检测的有生育能力的女性。

[0407] 研究治疗

[0408] 对于双盲治疗期,研究治疗是1mL的单次SC注射提供在自注射器中的75或150mg剂量的Alirocumab或安慰剂,施用至腹部、股部或上臂外侧区域中。

[0409] 在双盲治疗期期间(第0至24周),将合格的患者随机化以接受:Alirocumab 150mg,皮下,每4周一次,交替以Alirocumab的安慰剂,皮下,每4周一次,或Alirocumab 75mg,皮下,每2周一次,或安慰剂,皮下,每2周一次。

[0410] 研究药物会通过Q2W的SC注射施用,始于第0周并且持续直到末次注射(第22周),双盲治疗期结束之前2周。

[0411] 在第12周访视时,基于他们在第8周的LDL-C和基线CV风险,患者或者继续接受Alirocumab 150mg Q4W或75mg Q2W,或者将他们的剂量增量滴定,如下:

[0412] 1) 具有非常高CV风险的患者会以盲的方式:或者从第12周起继续接受Alirocumab 150mg Q4W或75mg Q2W,直到第22周时的末次注射,如果他们的第8周LDL-C<70mg/dL(1.81mmol/L)并且他们在第8周时具有距离基线至少30%的LDL-C降低;或者从第12周起接受增量滴定至Alirocumab 150mg Q2W的剂量,直到第22周时的末次注射,如果他们的第8周LDL-C \geq 70mg/dL(1.81mmol/L)或他们在第8周时不具有距离基线至少30%的LDL-C降低。

[0413] 2) 具有高或中等CV风险的患者会以盲的方式:或者从第12周起继续接受Alirocumab 150mg Q4W或75mg Q2W,直到第22周时的末次注射,如果他们的第8周LDL-C<100mg/dL(2.59mmol/L)并且他们在第8周时具有距离基线至少30%的LDL-C降低;或者从第12周起接受增量滴定至Alirocumab 150mg Q2W的剂量,直到第22周时的末次注射,如果他们的第8周LDL-C \geq 100mg/dL(2.59mmol/L)或他们在第8周时不具有距离基线至少30%的LDL-C降低。

[0414] 在开放标签治疗期(从第24周至2016年6月),合格的患者会接受:Alirocumab 150mg Q4W,直到第36周;然后从第36周起,根据在第32周的LDL-C测量结果和研究者的判断,患者会:或者继续接受Alirocumab 150mg Q4W,或者接受增量滴定至Alirocumab 150mg Q2W的剂量,从第36周起直到2016年6月。会允许后续减量滴定至150mg Q4W。

[0415] 在开放标签治疗期期间,全部患者会在第24周至第36周接受Alirocumab 150mg Q4W。在第36周随访时,基于他们在第32周的LDL-C,患者会或者继续接受Alirocumab 150mg Q4W,或者会根据研究者的判断将他们的剂量增量滴定至Alirocumab 150mg Q2W。允许后续减量滴定至150mg Q4W。

[0416] 尽管在可能的情况下应该使背景疗法保持稳定,但是可以基于研究者的判断对它们进行调整,特别是在有耐受性问题的情况下。对于基于LDL-C值的调整,研究者可以视需要修改背景疗法。然而,应当避免同时调整Alirocumab剂量和任何LMT。

[0417] Alirocumab的评价

[0418] 主要效力终点是LDL-C计算值从基线至第24周的百分比变化,其定义为: $100 \times (\text{第24周时的LDL-C计算值} - \text{基线处的LDL-C计算值}) / \text{基线处的LDL-C计算值}$ 。

[0419] 基线LDL-C计算值会是第一次双盲注射IMP之前获得的最后一次LDL-C水平。对于已经随机化但尚未治疗的患者,基线值定义为直到随机化之前获得的最后一次可用的值。

[0420] 第24周时的LDL-C计算值会是第24周分析窗口内获得的LDL-C水平。

[0421] 主要次要效力终点为:LDL-C计算值从基线至第12周的百分比变化;与用于主要效力终点的定义和规则类似,除了在第12周的LDL-C计算值是在第12周分析窗口内获得的LDL-C水平;Apo B从基线至第24周的百分比变化。与用于主要终点的定义和规则相同;非-HDL-C从基线至第24周的百分比变化。与用于主要终点的定义和规则相同;TC从基线至第24周的百分比变化。与用于主要终点的定义和规则相同;Apo B从基线至第12周的百分比变化。定义和规则与用于LDL-C计算值从基线至第12周的百分比变化的相同;非-HDL-C从基线至第12周的百分比变化。定义和规则与用于LDL-C计算值从基线至第12周的百分比变化的相同;TC从基线至第12周的百分比变化。定义和规则与用于LDL-C计算值从基线至第12周的百分比变化的相同;在第24周时达到LDL-C计算值 $<70\text{mg/dl}$ (1.81mmol/L) (对于非常高CV患者)或 $<100\text{mg/dl}$ (2.59mmol/L) (对于其他患者)的患者比例,使用用于主要终点的定义和规则;Lp(a)从基线至第24周的百分比变化;HDL-C从基线至第24周的百分比变化;HDL-C从基线至第12周的百分比变化;Lp(a)从基线至第12周的百分比变化;空腹TG从基线至第24周的百分比变化;空腹TG从基线至第12周的百分比变化;Apo A-1从基线至第24周的百分比变化;和Apo A-1从基线至第12周的百分比变化。

[0422] 其他次要效力终点为:在第12周时达到LDL-C $<70\text{mg/dl}$ (1.81mmol/L) (对于非常高CV患者)或 $<100\text{mg/dl}$ (2.59mmol/L) (对于其他患者)的患者比例;在第12和24周时LDL-C $<100\text{mg/dL}$ (2.59mmol/L)的患者比例,无论患者的CV风险;在第12和24周时LDL-C $<70\text{mg/dL}$ (1.81mmol/L)的患者比例(对于非常高CV风险患者);LDL-C(mg/dL 和 mmol/L)从基线至第12和24周的绝对变化;Apo B/Apo A-1比例从基线至第12和24周的变化;在第12和24周Apo B $<80\text{mg/dL}$ (0.8g/L)的患者比例;在第12和24周非-HDL-C $<100\text{mg/dL}$ (2.59mmol/L)的患者比例;在第12和24周LDL-C $<70\text{mg/dL}$ (1.81mmol/L)和/或LDL-C降低 $\geq 50\%$ (如果LDL-C $\geq 70\text{mg/dL}$)的非常高CV风险患者的比例;在第12和24周达到至少50%的LDL-C降低的患者比例。

[0423] 脂质参数如下评价。总-C、HDL-C、TG、Apo B、Apo A-1和Lp(a)直接测量。全部访视(除了第-1周和随访访视)时的LDL-C使用Friedewald公式计算。如果TG值超过 400mg/dL (4.52mmol/L),那么实验室会自反性测量(经由beta定量方法)LDL-C而非计算该值。还在第0周和第24周在全部患者中测量LDL-C(经由beta定量方法)。非-HDL-C通过从总-C减去HDL-C计算。计算Apo B/Apo A-1比例。

[0424] 临床实验室数据由尿液分析和血液分析、血液学(RBC计数、红细胞分布宽度(RDW)、网织红细胞计数、血红蛋白、血细胞比容、血小板、带有差示血液计数的WBC计数)、标准化学(葡萄糖、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、钙、磷、尿素氮、肌酸酐、尿酸、总蛋白、LDH、白蛋

白、 γ 谷氨酰转移酶 [γ GT])、丙肝抗体、肝指标小组 (liver panel) (ALT、AST、ALP 和总胆红素) 和 CPK 组成。可以基于实际数据自反性测量一些额外的安全性实验室参数。

[0425] 测量如下生命体征: 坐姿的心率、收缩压和舒张压。

[0426] 测量 ECG 数据。

[0427] 评价抗 Alirocumab 抗体并包括抗体状态 (阳性/阴性) 和抗体效价。

[0428] 评价从基线至第 12 和 24 周的 hs-CRP 的百分比变化。

[0429] 评价从基线至第 12 和 24 周的 HbA1c (%) 的绝对变化。

[0430] EQ-5D 是由 EuroQol Group 开发的健康状态的标准测量法, 目的是为临床和经济评估提供简单、通用的健康测量法。EQ-5D 作为与健康相关的生活质量的测量法, 从 5 个维度定义健康: 移动性、自我护理、日常活动、疼痛/不适、焦虑/抑郁。每个维度采用三种反应之一 (严重性的 3 个顺序水平): “没问题” (1) “有些问题” (2) “问题严重” (3)。整体健康状态定义为 5 位数字。可以将通过 5 维度分类定义的健康状态转化为量化健康状态的相应的指数得分, 其中 0 代表“死亡”而 1 代表“完全健康”。EQ-5D 变量包括对每个 EQ-5D 项目的反应、指数得分和指数得分距离基线的变化。

[0431] 药代动力学变量包括总血清 Alirocumab 浓度。从相同的 PK 样品测量总体和游离 PCSK9 浓度。

[0432] 进行任意的药物基因组学子研究以鉴定与响应于 PCSK9 抑制、高血脂症或 CVD 的临床或生物标志物的遗传关联。如有需要, 还可以使用样品来鉴定与毒性相关的标志物。分析可以包括序列测定或来自候选基因的单核苷酸多态性 (SNP)。候选基因可以包括 (但不限于) PCSK9、Apo B 和 LDL-R。基因组宽度研究, 包括 (但不限于) SNP 分析和/或基因组测序也可以进行。

[0433] 研究流程

[0434] 对于第 1 天/第 0 周 (随机化访视) 之后的全部访视, 允许一定天数的时间框。对于直到第 24 周的全部访视的窗口期是 ± 3 天, 且对于随访期为 ± 7 天。在开放标签期, 访视窗口对于第 28、32、36 周围 ± 5 天, 且对于其他访视为 ± 7 天。

[0435] 用于测定脂质参数 (即, 总-C、LDL-C、HDL-C、TG、非-HDL-C、Apo B、Apo A-1、Apo B/Apo A-1 比、Lp[a]) 的血液采样应当在早晨、空腹状态 (即过夜, 至少 10 至 12 小时禁食且禁烟) 下进行。

[0436] 收集以下实验室数据: 血液学; 化学; 脂质指标小组 1: TC、计算的 LDL-C、HDL-C、TG、非-HDL-C; 脂质指标小组 2: ApoB、ApoA-1、ApoB/ApoA-1 比例和 Lp(a); 肝指标小组: 在总胆红素值在正常范围之上的情况下, 自动区分为缀合和未缀合的胆红素; 肌酸磷酸激酶 (CPK); 乙肝表面抗原; 丙肝抗体: 用自反性检测确认阳性检测; 血清妊娠检测。

[0437] 尿液分析——进行试纸测试并评价 pH、比重, 以及血液、蛋白质、葡萄糖、酮、硝酸盐、白细胞酯酶、尿胆素原和胆红素的存在。如果试纸异常, 那么进行标准显微镜检。

[0438] 在研究过程中还测量全部其他血液参数。测量血糖参数 (HbA1c 和血清葡萄糖)。用于炎症参数、hs-CRP 的血液采样在整个研究过程中定期收集。

[0439] 用于评价 Alirocumab 浓度的血清样品在整个研究过程中定期获得。对于访视 3 (第 0 周)、4 (第 4 周)、5 (第 8 周)、6 (第 9 周)、7 (第 10 周)、8 (第 11 周)、9 (第 12 周)、10 (第 16 周) 和 11 (第 24 周) 血液样品在 IMP 注射之前收集。应在 IMP 注射之前收集血液样品。

[0440] 文库(血浆和血清)样品在整个研究过程中定期收集。在随机化访视时第一份按计划样品在IMP注射前(给药前)获得。文库样品可以包括研究PCSK9水平、PCSK9功能、单克隆抗体对PCSK9的抑制效果、脂蛋白细分以及高血脂症和心脏病的机制。如有需要,也可以使用样品来鉴定与毒性相关的标志物。文库样品从不用于基因组分析。

[0441] 在整个研究中的多个时间点应进行一般性身体检查。

[0442] 血压应当在标准化条件下以坐姿、在一天中大致相同的时间、同一手臂、使用相同的设备测量(患者以坐姿舒适休息至少5分钟之后)。在测量血压时测量心率。

[0443] 在休息至少10分钟之后以仰卧姿势进行12导联ECG。

[0444] 体重应当在患者穿着内衣或非常轻便的着装且不穿鞋并排空膀胱的情况下获得。还应该获得身高。

[0445] 访视安排

[0446] 应当仅筛选符合纳入标准的患者。在随机化/第1天访视之前筛选期会历时多达3周或21天(并且在收到实验室合格标准的情况下尽可能的短)。筛选访视(访视1/第-3周/第-21天直至第-8天)包括:评价纳入/排除标准;获得患者人口统计学——年龄、性别、人种和种族;获得医疗史(包括更年期状态)、外科手术史、饮酒习惯和吸烟习惯;获得家族医疗史(包括与早发性CHD(男性在55岁之前,女性在65岁之前,一级亲属)相关的风险因素、过敏性和2型糖尿病);记录之前12周之内的在先医疗史,特别是对于调脂疗法(包括他汀)和可能影响脂质的营养品(例如, ω -3脂肪酸、植物甾烷醇如存在于Benecol、亚麻籽油、欧车前之中的);记录伴随药物;获得体重和身高测量结果。

[0447] 取得生命体征,包括HR和BP;进行身体检查。

[0448] 筛选时的注射训练访视(访视2/第-1周/第-7 \pm 3天)包括以下:评价纳入/排除标准;收集AE;记录伴随药物;取得生命体征包括HR和BP。

[0449] 随机化访视(访视3/第0周/第1+3天)包括以下:评价纳入/排除标准;收集AE;记录伴随药物;回顾患者饮食。患者应当采用NCEP-ATPIII TLC饮食或等效物;进行身体检查;取得体重测量结果;取得生命体征包括HR和BP;尿液分析(试纸,如果异常则进行显微镜检);尿液妊娠检测(仅对有生育能力的女性);获得空腹血液样品,用于:脂质:测量和/或计算总-C、LDL-C(LDL计算值和测量值)、HDL-C、TG、非-HDL-C、Apo B、Apo A-1、Apo B/Apo A-1比和Lp(a);hs-CRP;文库样品;血液学;红细胞计数,包括血细胞比容、血红蛋白、红细胞分布宽度(RDW)、网织红细胞计数、带有差示计数的WBC计数和血小板;化学:葡萄糖、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、钙、磷、尿素氮、肌酸酐、尿酸、LDH、总蛋白、白蛋白和 γ GT;肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素);CPK;抗Alirocumab抗体;血清Alirocumab浓度(PK);和基因组样本收集。

[0450] 访视4/第4周,(第29 \pm 3天)包括以下:收集AE;记录伴随药物;取得生命体征包括HR和BP;通过日记回顾收集关于IMP施用和IMP顺从性检查的数据;获得空腹血液样品用于:脂质:测量或计算总-C、LDL-C、HDL-C、TG、非-HDL-C;肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素);血清Alirocumab浓度(PK);和抗Alirocumab抗体。

[0451] 访视5/第8周(第57 \pm 3天)包括以下:收集AE;记录伴随药物;取得生命体征包括HR和BP;通过日记回顾收集关于IMP施用和IMP顺从性检查的数据;获得空腹血液样品用于:肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素)、脂质:测量或计算总-C、LDL-C、HDL-C、TG、非-HDL-C、

Apo B、Apo A-1、Apo B/Apo A-1比例和Lp(a)、血清Alirocumab浓度(PK)和抗Alirocumab抗体。

[0452] 访视6、7、8/第9、10、11周(第64、71、78±3天)包括以下:应在IMP注射之前收集血液样品;血清Alirocumab浓度(PK);脂质:测量或计算总-C、LDL-C、HDL-C、TG、非-HDL-C;和伴随药物。

[0453] 访视9/第12周(第85±3天)包括以下:收集AE;记录伴随药物;取得体重测量结果;取得生命体征包括HR和BP;回顾患者的饮食。患者应当采用NCEP-ATPIII TLC饮食或等效物;进行12-导联ECG;EQ-5D患者问卷;尿液分析(试纸,如果异常则进行显微镜检);尿液妊娠检测(仅对有生育能力的女性);获得空腹血液样品用于:脂质:测量和/或计算总-C、LDL-C、HDL-C、TG、非-HDL-C、Apo B、Apo A-1、Apo B/Apo A-1比例和Lp(a);文库样品;血液学:红细胞计数包括血细胞比容、血红蛋白、红细胞分布宽度(RDW)、网织红细胞计数、带有差示计数的WBC计数和血小板;化学:葡萄糖、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、钙、磷、尿素氮、肌酸酐、尿酸、LDH、总蛋白、白蛋白和 γ GT。文库样品;血液学:红细胞计数包括血细胞比容、血红蛋白、红细胞分布宽度(RDW)、网织红细胞计数、带有差示计数的WBC计数和血小板;化学:葡萄糖、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、钙、磷、尿素氮、肌酸酐、尿酸、LDH、总蛋白、白蛋白和 γ GT。

[0454] HbA1c和hs-CRP;肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素);CPK;抗Alirocumab抗体;血清Alirocumab浓度(PK)。

[0455] 访视10/第16周(第113±3天)包括以下:收集AE;记录伴随药物;取得体重测量结果;取得生命体征包括HR和BP;进行12-导联ECG;通过日记回顾收集关于IMP施用和IMP顺从性检查的数据;EQ-5D患者问卷;尿液分析(试纸,如果异常则进行显微镜检);尿液妊娠检测(仅对有生育能力的女性);获得空腹血液样品用于:脂质:测量和/或计算总-C、LDL-C、HDL-C、TG、非-HDL-C、Apo B、Apo A-1、Apo B/Apo A-1比例和Lp(a);血液学:红细胞计数包括血细胞比容、血红蛋白、红细胞分布宽度(RDW)、网织红细胞计数、带有差示计数的WBC计数和血小板;化学:葡萄糖、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、钙、磷、尿素氮、肌酸酐、尿酸、LDH、总蛋白、白蛋白和 γ GT。

[0456] HbA1c和hs-CRP;肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素);CPK;抗Alirocumab抗体;和血清Alirocumab浓度(PK)。

[0457] 访视11/第24周/双盲期结束时(第169±3天)包括以下:收集AE;记录伴随药物;取得体重测量结果;取得生命体征包括HR和BP;进行12-导联ECG;进行身体检查;EQ-5D患者问卷;回顾患者的饮食。患者应当采用NCEP-ATPIII TLC饮食或等效物;尿液分析(试纸,如果异常则进行显微镜检);尿液妊娠检测(仅对有生育能力的女性);获得空腹血液样品用于:脂质:测量和/或计算总-C、LDL-C(LDL计算值和测量值)、HDL-C、TG、非-HDL-C、Apo B、Apo A-1、Apo B/Apo A-1比例和Lp(a);hs-CRP;文库样品;血液学:红细胞计数,包括血细胞比容、血红蛋白、红细胞分布宽度(RDW)、网织红细胞计数、带有差示计数的WBC计数和血小板;化学:葡萄糖、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、钙、磷、尿素氮、肌酸酐、尿酸、总蛋白、白蛋白和 γ GT;乙肝和丙肝抗体检测(如果为阳性,使用自动验证检测);HbA1c;肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素);CPK;抗Alirocumab抗体;和血清浓度Alirocumab(PK)。

[0458] 随访访视(访视12/第32周/第225±7天)包括以下:收集AE;记录伴随药物;取得生命体征包括HR和BP;进行身体检查(仅在临床相关异常的情况下,在治疗访视结束时);尿液

分析(仅在临床相关异常值的情况下,在治疗访视结束时);尿液妊娠检测(仅对有生育能力的女性);获得空腹血液样品用于:抗Alirocumab抗体,仅在对于这些参数有临床相关异常值的情况下,在治疗访视结束时,会在此次访视时获得以下:血液学:红细胞计数包括血细胞比容、血红蛋白、红细胞分布宽度(RDW)、网织红细胞计数、带有差示计数的WBC计数和血小板;化学:葡萄糖、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、钙、磷、尿素氮、肌酸酐、尿酸、总蛋白、LDH、白蛋白和 γ GT;肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素);和CPK。

[0459] 开放标签治疗期(任选的)

[0460] 成功完成双盲治疗期的患者有资格(条件是他们没有经历任何限制治疗的非骨骼肌肉相关的AE或具有显著的方案偏离)进入任选的开放标签治疗期。对于这些患者的治疗会从双盲治疗期期间研究药物的末次剂量(第22周)起不间断地持续至第24周(开放标签治疗期的第一次剂量)之后,直至2016年6月。

[0461] 在访视11/第24周,患者同时进行双盲治疗期结束评价和基线开放标签治疗期评价。研究场所的人员应当与患者一起回顾开放标签治疗期的治疗要求,并提醒患者开放标签治疗期的给药在本次访视时开始。收集以下信息:评价用于开放标签治疗期的排除标准;对于双盲治疗期结束进行的全部评估与开放标签治疗期首次访视的相同;回顾患者的饮食。患者应当采用NCEP-ATPIII TLC饮食或等效物。如果患者确认合格(并且在空腹状态),那么研究者开始下一项研究流程:进行首次开放标签IMP注射,但是只有在收集了空腹血液样品之后并且在评价了在该次访视时计划的全部评估之后。

[0462] 访视12/第28周包括以下:收集AE;记录伴随药物;尿液妊娠检测;回顾患者的饮食。患者应当采用NCEP-ATPIII TLC饮食或等效物;通过日记回顾收集关于IMP施用和IMP顺从性检查的数据;和获得空腹血液样品用于:肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素)。

[0463] 访视13/第32周包括以下:收集AE;记录伴随药物;尿液妊娠检测;回顾患者的饮食。患者应当采用NCEP-ATPIII TLC饮食或等效物;通过日记回顾收集关于IMP施用和IMP顺从性检查的数据;获得空腹血液样品用于:肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素);脂质:测量或计算总-C、LDL-C、HDL-C、TG、非-HDL-C;HbA1c;血液学:红细胞计数包括血细胞比容、血红蛋白、红细胞分布宽度(RDW)、网织红细胞计数、带有差示计数的WBC计数和血小板;化学:葡萄糖、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、钙、磷、尿素氮、肌酸酐、尿酸、LDH、总蛋白、白蛋白和 γ GT;和CPK。

[0464] 访视14/第36周包括以下:收集AE;记录伴随药物;取得体重测量结果;取得生命体征包括HR和BP;进行身体检查;回顾患者的饮食。患者应当采用NCEP-ATPIII TLC饮食或等效物;EQ-5D患者问卷;尿液妊娠检测(仅对有生育能力的女性);获得空腹血液样品用于:脂质:测量和/或计算总-C、LDL-C、HDL-C、TG、非-HDL-C、Apo B、Apo A-1、Apo B/Apo A-1比例和Lp(a);肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素);抗Alirocumab抗体。

[0465] 访视15、17、19/第48、72、96周包括以下:收集AE;记录伴随药物;取得体重测量结果;取得生命体征包括HR和BP;回顾患者的饮食。患者应当采用NCEP-ATPIII TLC饮食或等效物;进行身体检查;通过日记回顾收集关于IMP施用和IMP顺从性检查的数据和治疗试剂盒;EQ-5D患者问卷;尿液分析(试纸,如果异常则进行显微镜检);尿液妊娠检测(仅对有生育能力的女性);获得空腹血液样品用于:脂质:测量和/或计算总-C、LDL-C、HDL-C、TG、非-HDL-C;血液学:红细胞计数包括血细胞比容、血红蛋白、红细胞分布宽度(RDW)、网织红细胞

计数、带有差示计数的WBC计数和血小板;化学:葡萄糖、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、钙、磷、尿素氮、肌酸酐、尿酸、总蛋白、白蛋白和 γ GT;HbA1c;肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素);CPK;和抗Alirocumab抗体。

[0466] 访视16、18、20/第60、84、108周包括以下:收集AE;记录伴随药物;回顾患者的饮食。患者应当采用NCEP-ATPIII TLC饮食或等效物;和通过日记回顾收集关于IMP施用和IMP顺从性检查的数据和治疗试剂盒。

[0467] 访视21/第120周或2016年6月(以先到来者为准)(OLTP治疗结束)包括以下:收集AE;记录伴随药物;取得体重测量结果;回顾患者的饮食。患者应当采用NCEP-ATPIII TLC饮食或等效物;取得生命体征包括HR和BP;进行12-导联ECG;进行身体检查;通过日记回顾收集关于IMP施用和IMP顺从性检查的数据和治疗试剂盒责任(accountability);EQ-5D患者问卷;尿液分析(试纸,如果异常则进行显微镜检);尿液妊娠检测(仅对有生育能力的女性);获得空腹血液样品用于:脂质:测量和/或计算总-C、LDL-C、HDL-C、TG、非-HDL-C、Apo B、Apo A-1、Apo B/Apo A-1比例和Lp(a);血液学:红细胞计数包括血细胞比容、血红蛋白、红细胞分布宽度(RDW)、网织红细胞计数、带有差示计数的WBC计数和血小板;化学:葡萄糖、钠、钾、氯化物、碳酸氢盐、钙、磷、尿素氮、肌酸酐、尿酸、总蛋白、白蛋白和 γ GT。

[0468] HbA1c;肝指标小组(ALT、AST、ALP和总胆红素);CPK;和抗Alirocumab抗体。

[0469] 本发明不限于本文描述的具体实施方案的范围。事实上,在本文描述的内容之外对本发明的多种修改根据前文所述和所附附图对于本领域技术人员会是显而易见的。意图使这些修改落入所附权利要求的范围之内。

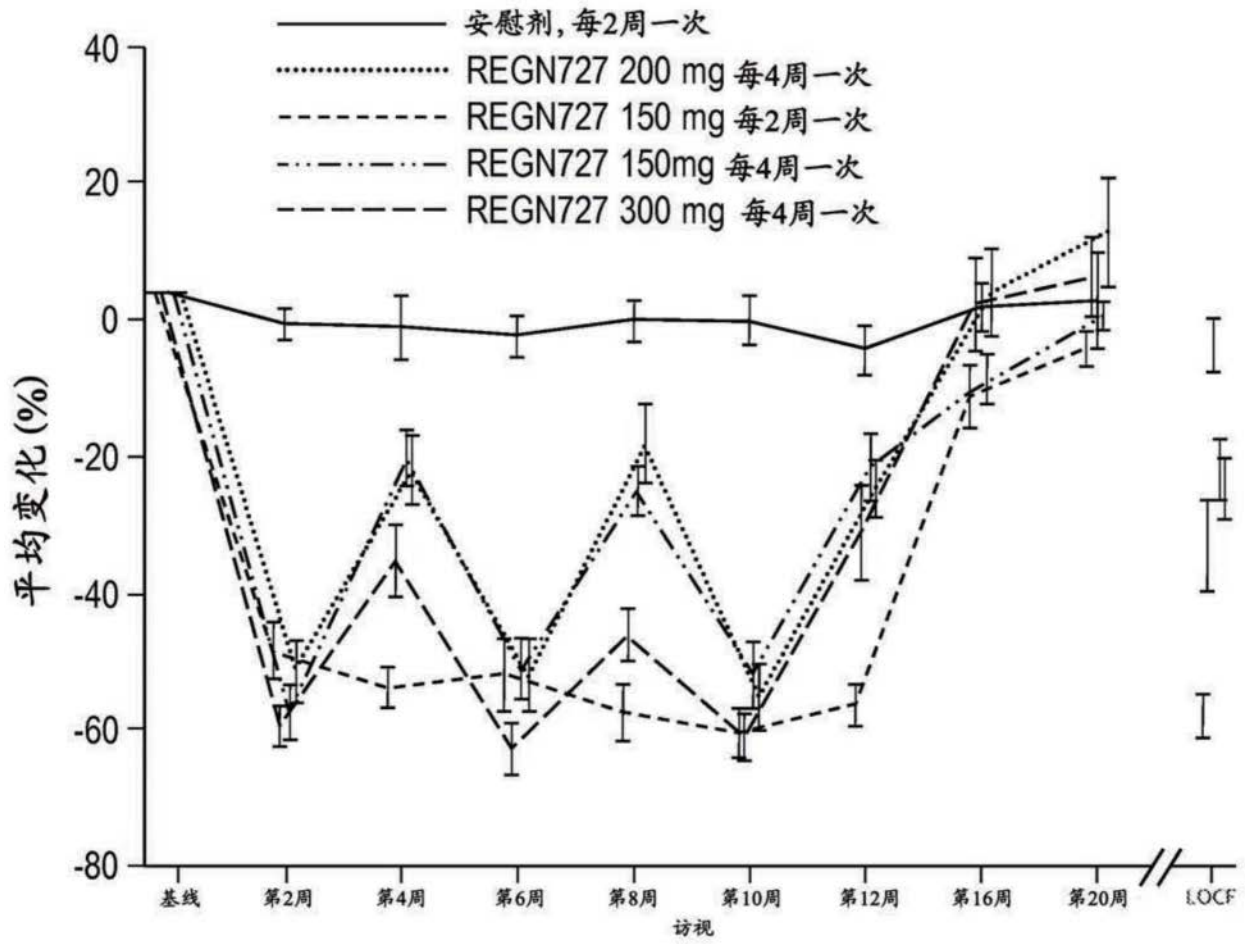
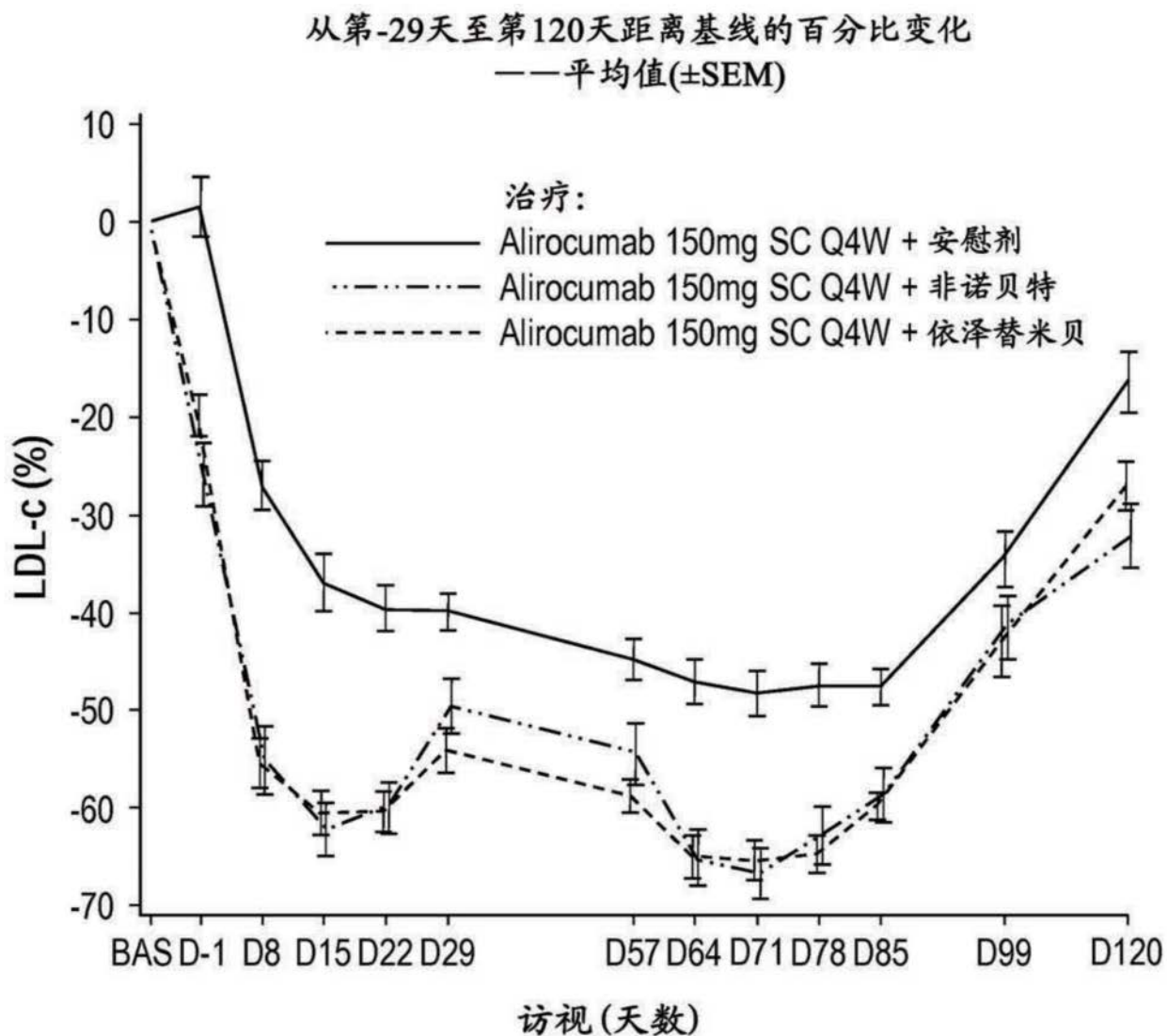


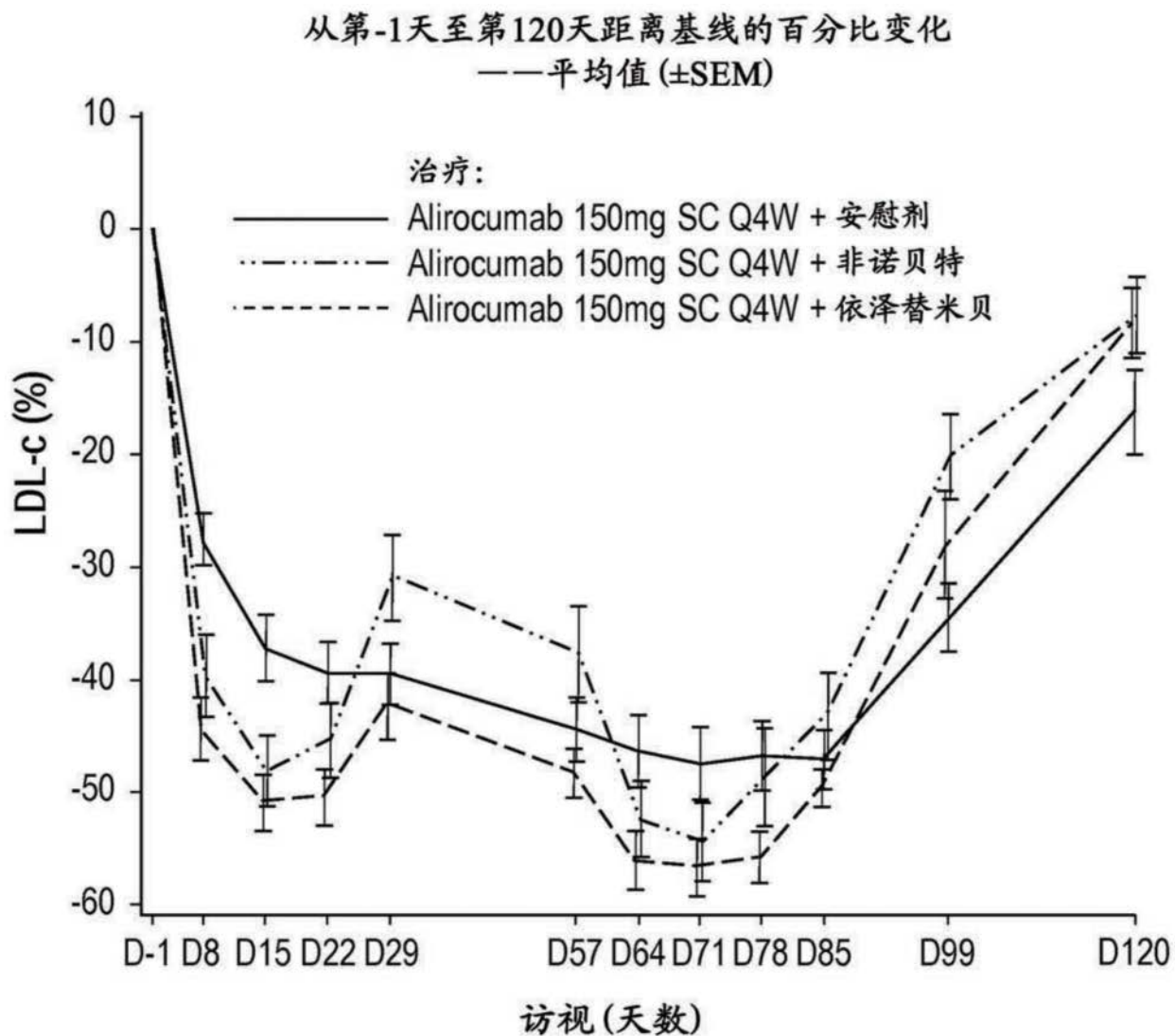
图1



BAS=基线(第-29天)

对单独的安慰剂、依泽替米贝或非诺贝特进行从第-29天(不含)至第-1天(含)的评价

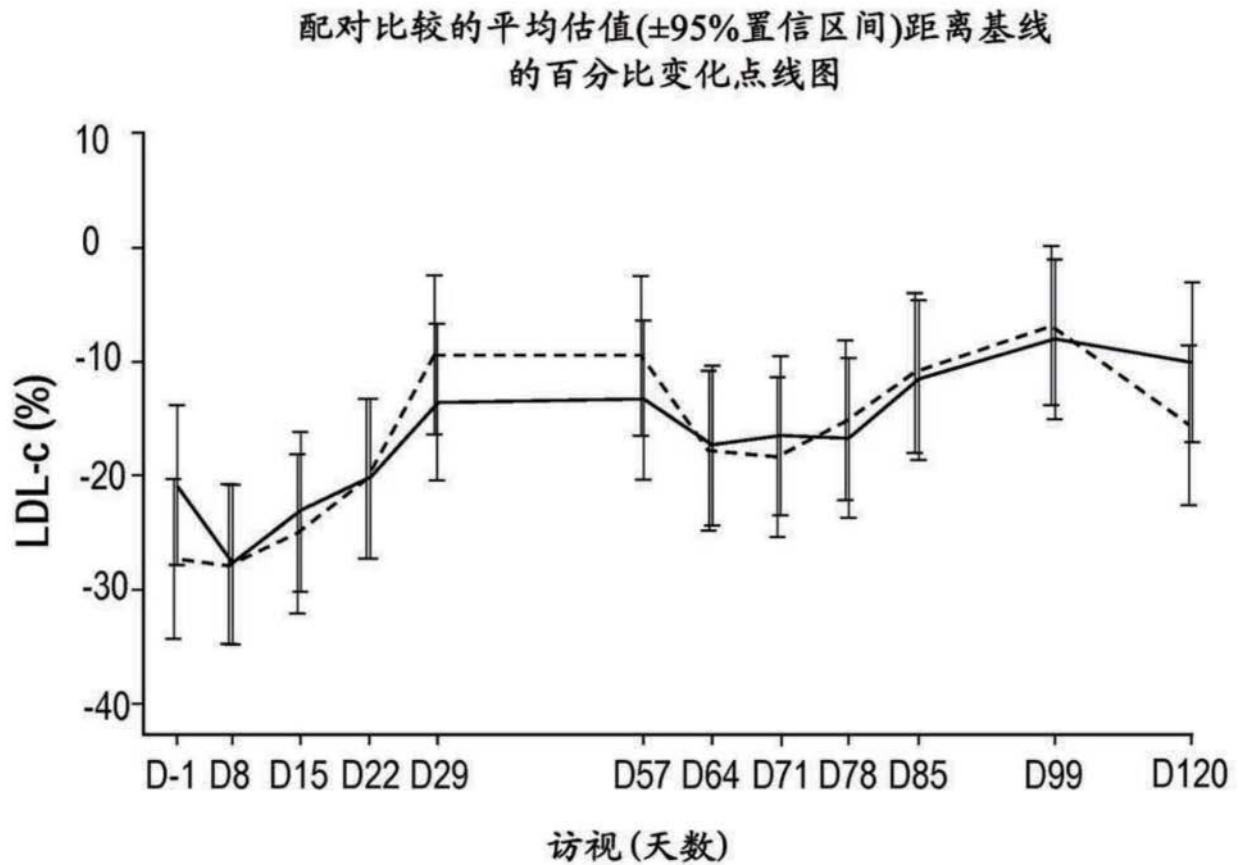
图2



BAS=基线(第-1天)

对单独的安慰剂、依泽替米贝或非诺贝特进行从第-29天(不含)至第-1天(含)的评价

图3



治疗:

- Alirocumab 150mg SC Q4W + 依泽替米贝 Alirocumab 150mg SC Q4W
----- Alirocumab 150mg SC Q4W + 非诺贝特 vs Alirocumab 150mg SC Q4W

BAS=基线(第-29天)

对单独的安慰剂、依泽替米贝或非诺贝特进行从第-29天(不含)至
第-1天(含)的评价

图4

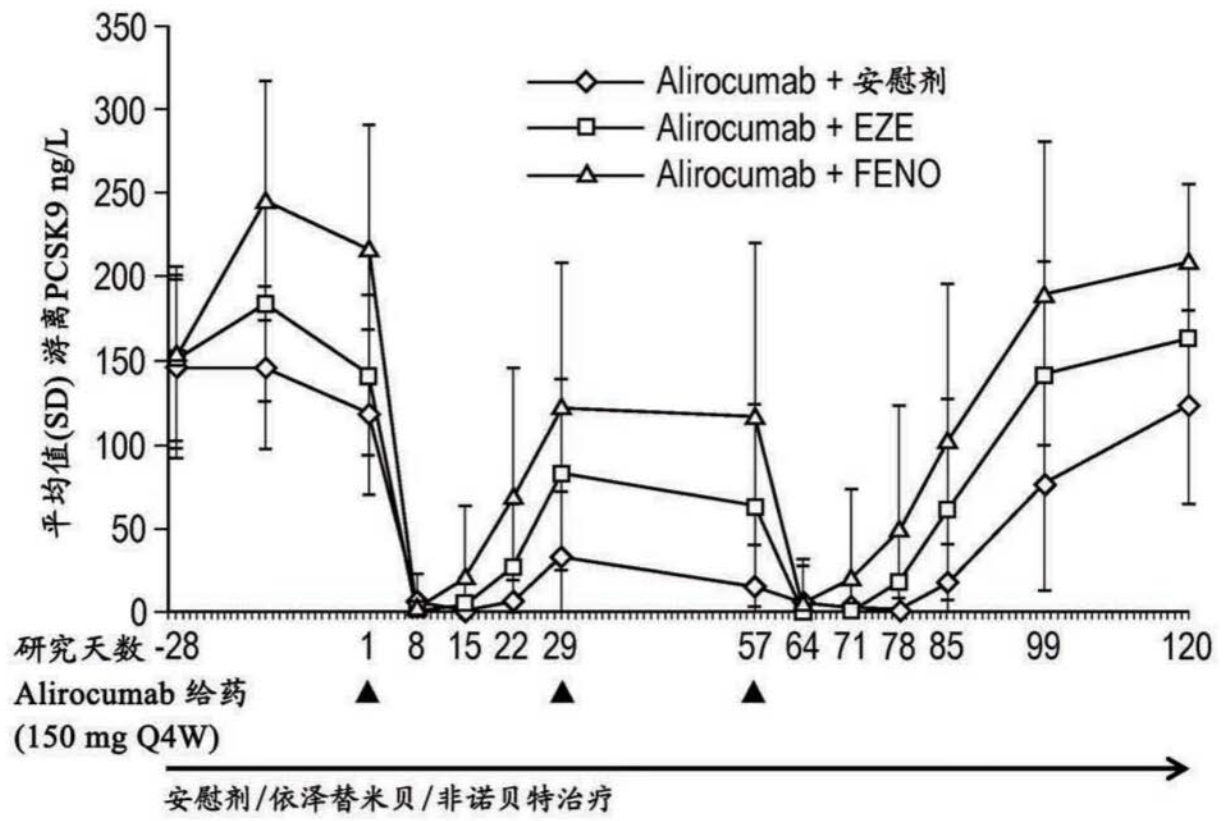


图5A

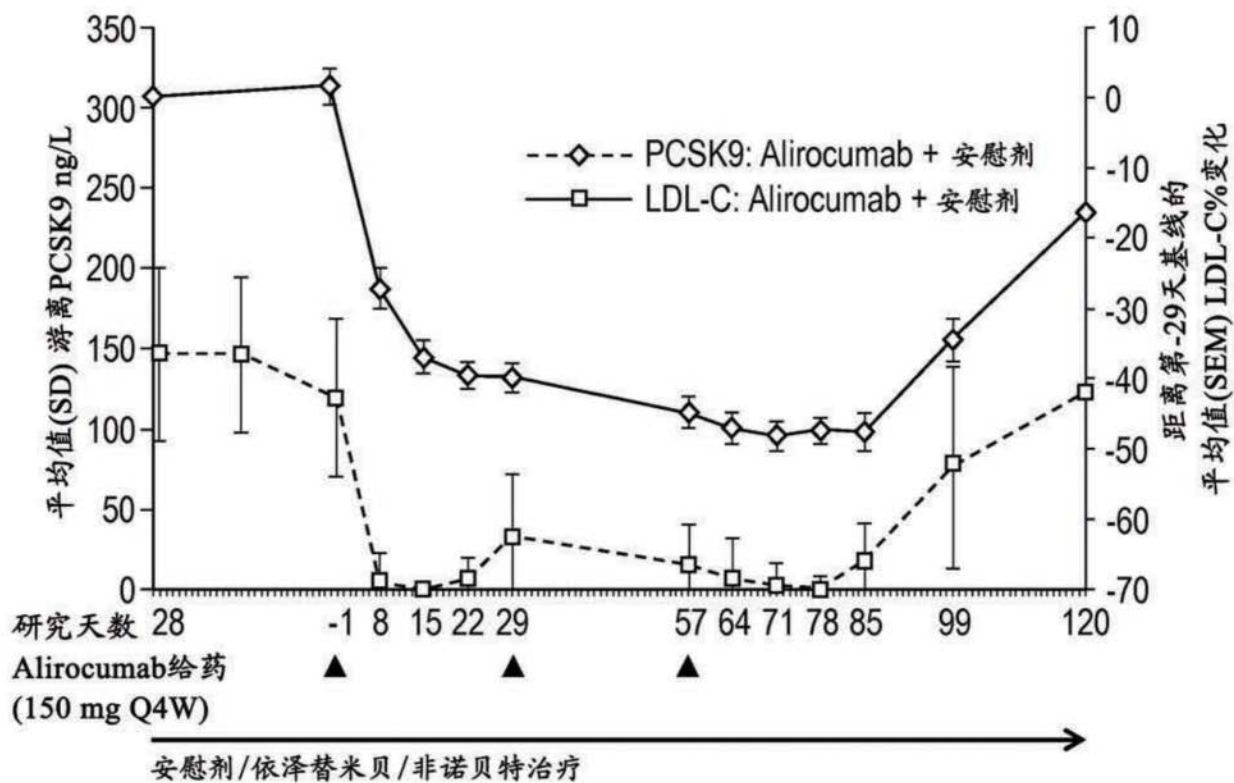


图5B

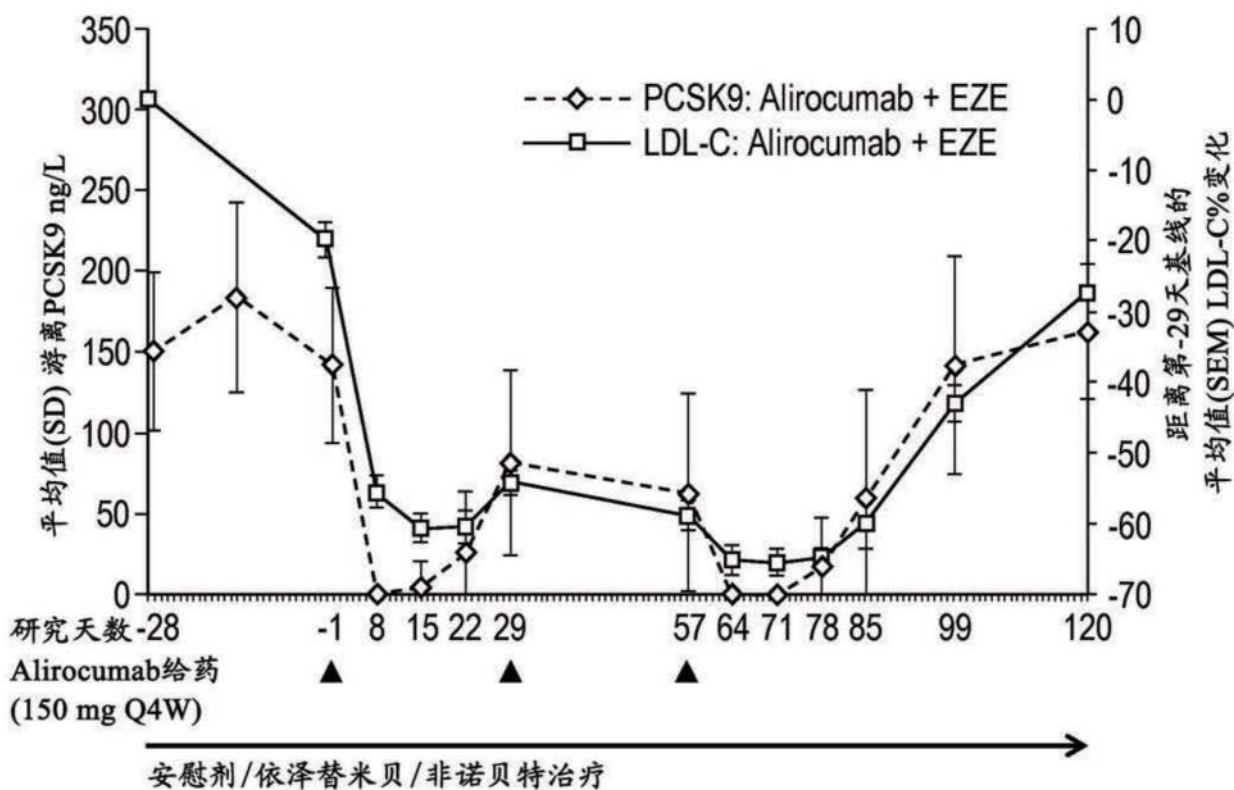


图5C

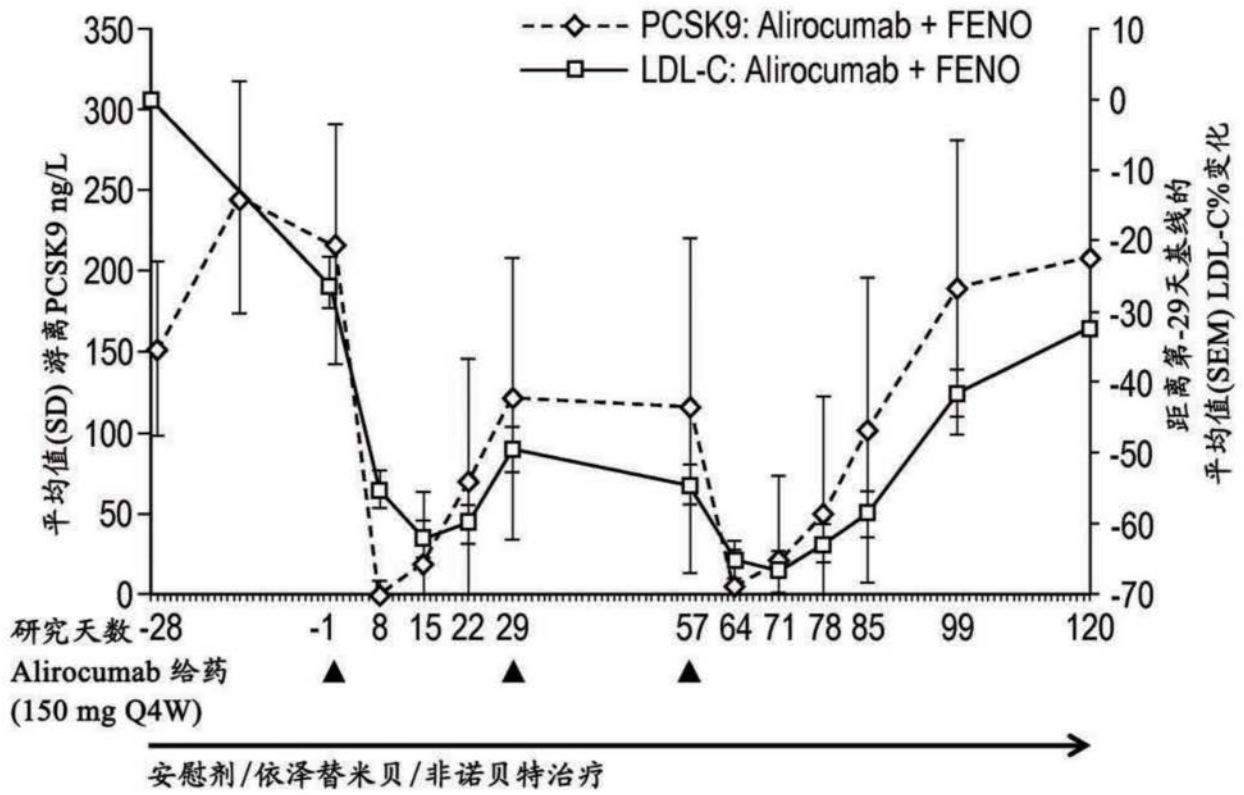


图5D

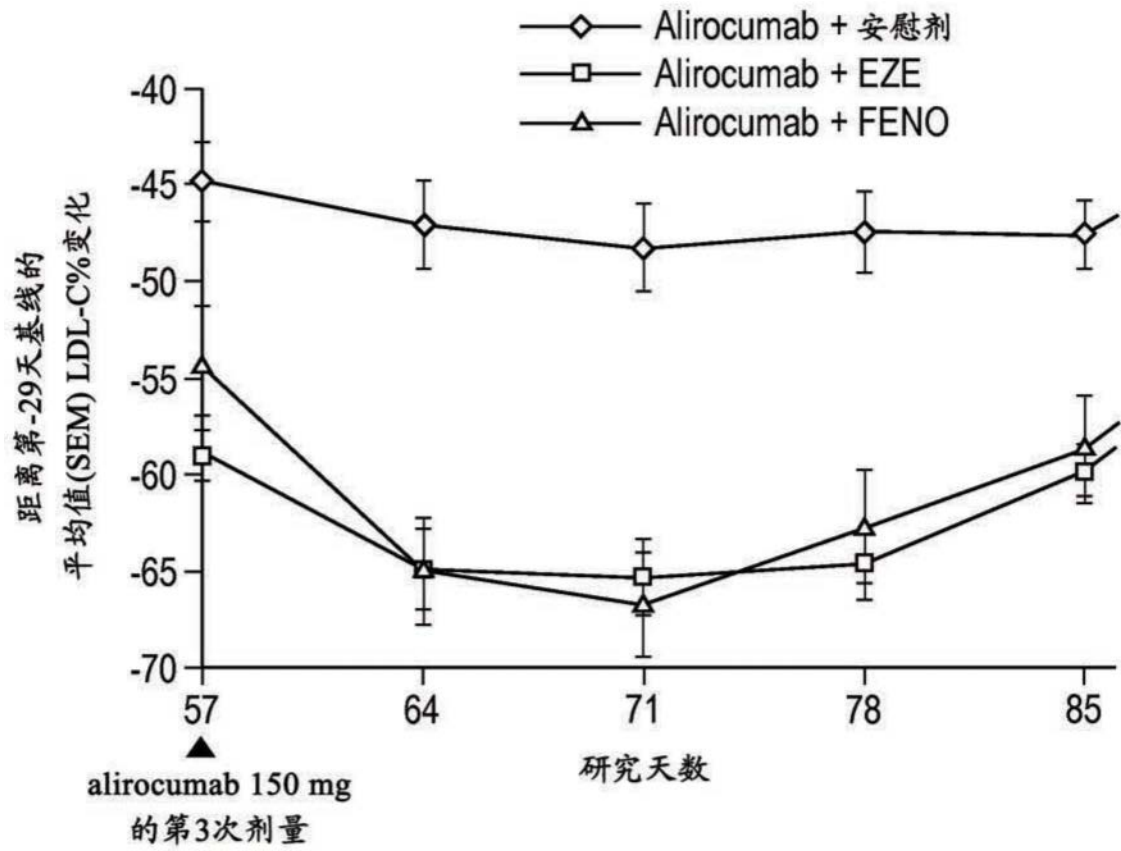


图6A

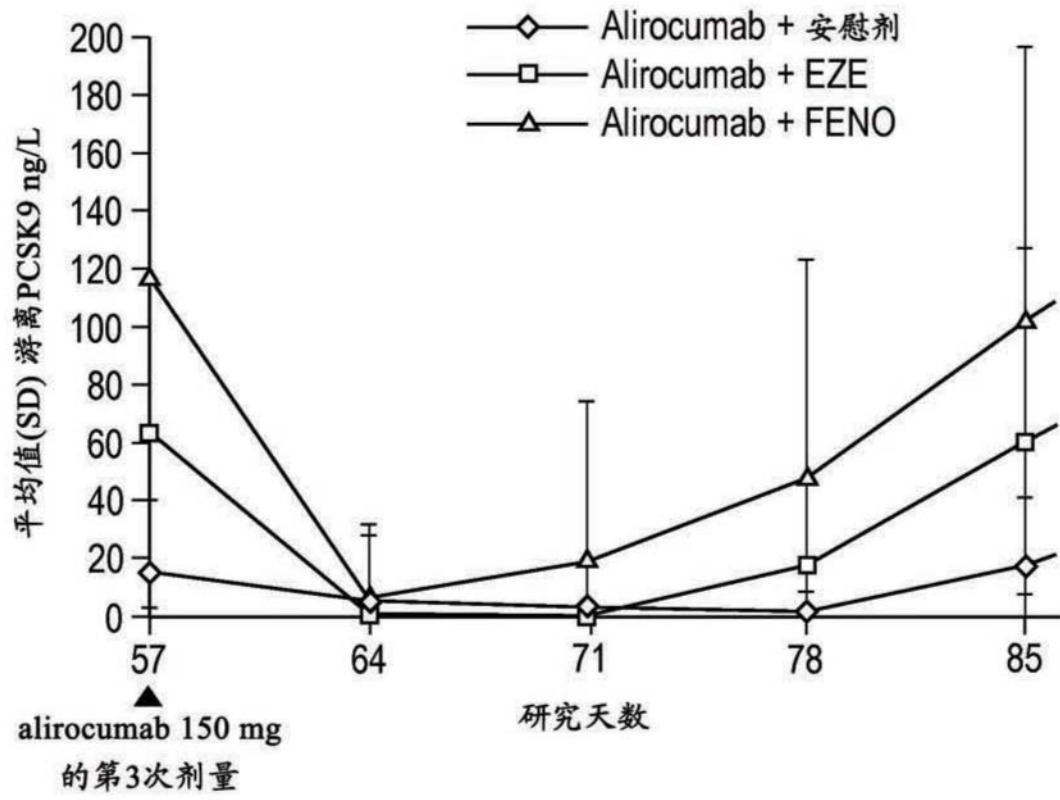


图6B

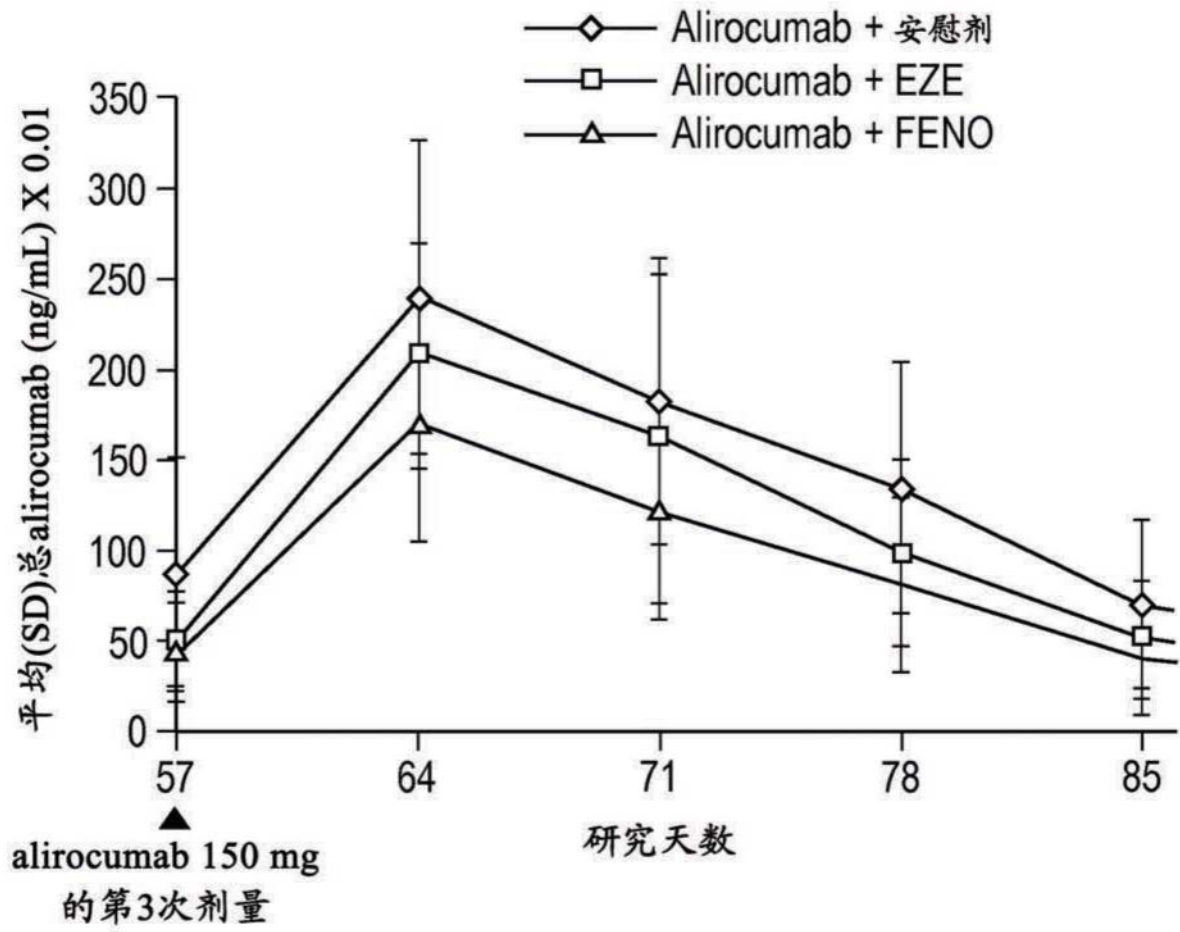


图6C

以线性和半对数形式显示的在第1次施用alirocumab之后第1天平均
alirocumab血清浓度-时间图

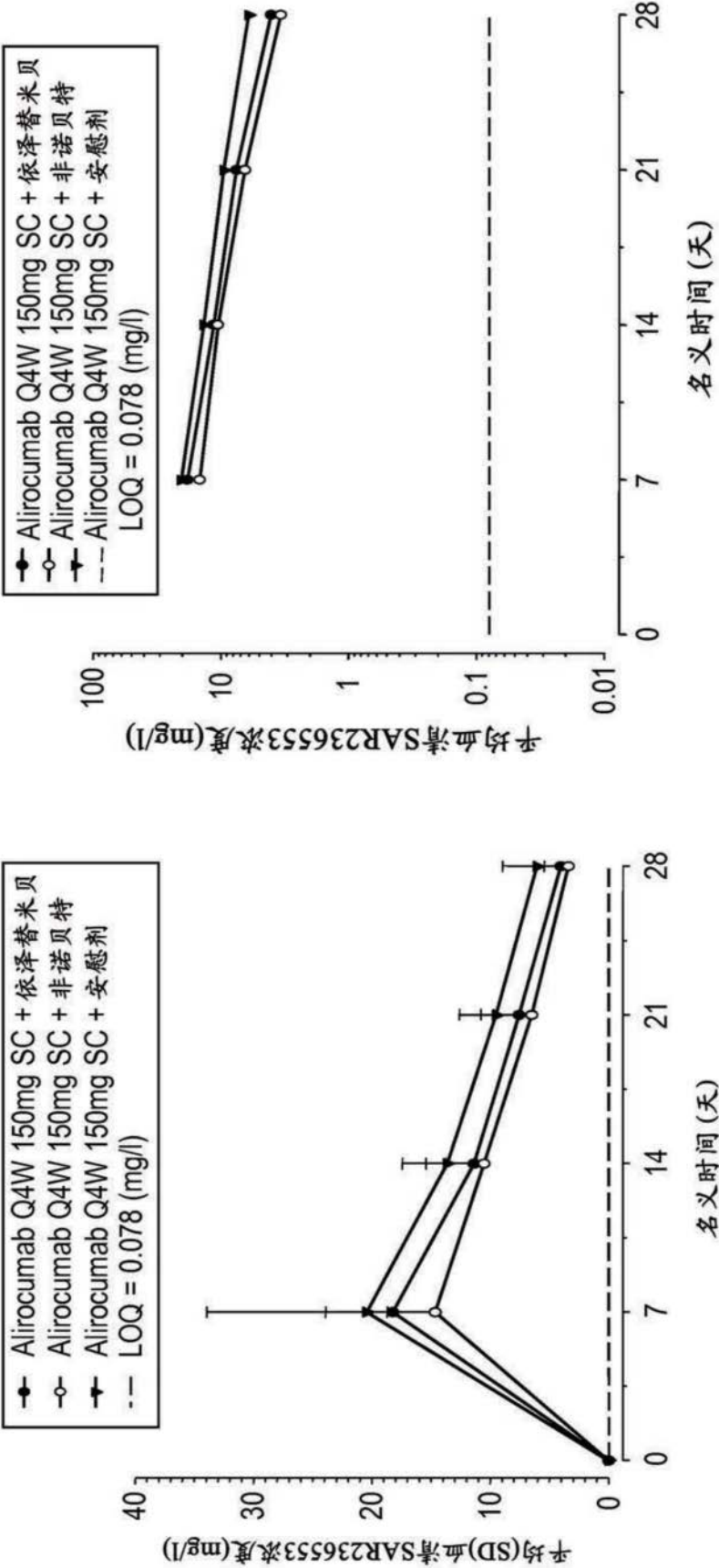


图7

以线性和半对数形式显示的在第3次施用alirocumab之后第57天平均
alirocumab血清浓度-时间图

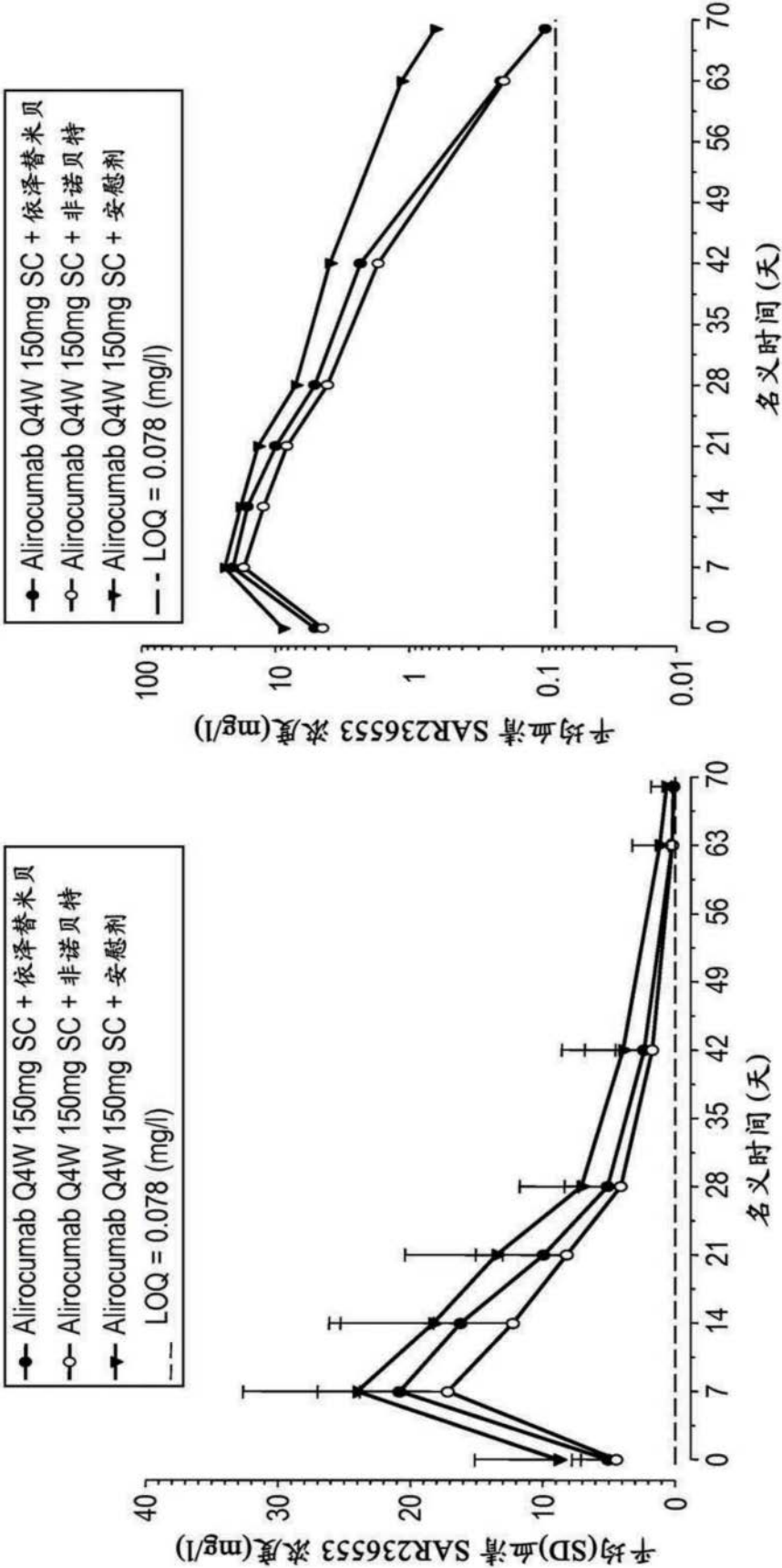


图7 (续)